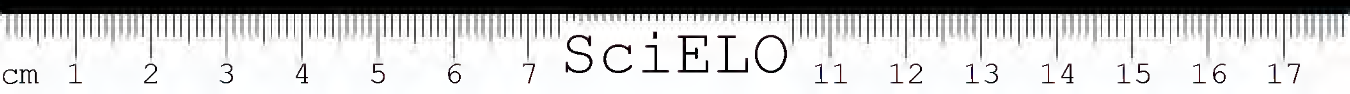
MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO BUTANTAN

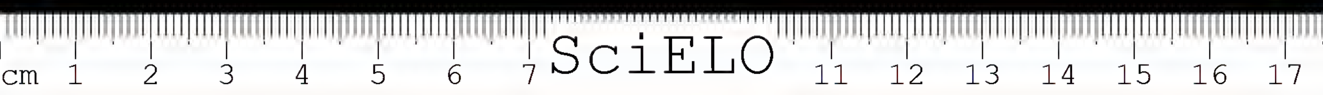
1942

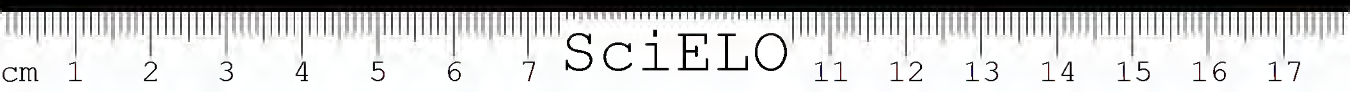
TOMO XVI



São Paulo, Brasil
Caixa Postal 65


cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16 17


cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16 17


cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16 17

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO BUTANTAN

1942

TOMO XVI



São Paulo, Brasil
Caixa Postal 65

ÍNDICE

NOTICIÁRIO

Ao ser impresso o presente número das "Memórias", é a seguinte a relação do pessoal técnico superior das várias seções do Instituto Butantan:

Diretor:

FLAVIO OLIVEIRA RIBEIRO DA FONSECA, Dipl. Med. (D. M.), Prof. Parasit. Esc. Paul. Med.

Assistentes-chefes:

ALCIDES PRADO, B. Cien. & L., Dipl. Med.
CICERO DE MOURA NEIVA, B. Cienc. & L., Dipl. Med. Veter.
JOAQUIM TRAVASSOS DA ROSA, B. Cienc. & L., Dipl. Med.
JOSÉ BERNARDINO ARANTES, Dipl. Farm., Dipl. Med. (D. M.)
MOACYR DE FREITAS AMORIM, Dipl. Med. (D. M.), Livre docente Anat. Patol. da Fac. Med. S. Paulo.
PAULO MONTEIRO DE BARROS MARREY, Dipl. Med.
SEBASTIÃO DE CAMARGO CALAZANS, Dipl. Med.

Assistentes:

ARISTIDES VALLEJO-FREIRE, Dipl. Med.
ARMANDO TABORDA, B. Cienc. & L., Dipl. Quim.
FERNANDO PAES DE BARROS, Dipl. Farm., Dipl. Med. (D. M.)
JANDYRA PLANET DO AMARAL, Dipl. Med. (D. M.)
JOSÉ RIBEIRO DO VALLE, B. Cienc. & L., Dipl. Med. (D. M.), Prof. Farmacol. Esc. Paul. Med.

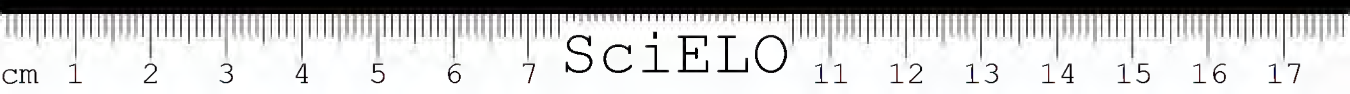
Assistente-quimico:

ANTONIO DE SALLES TEIXEIRA, Dipl. Farm.

Assistentes-auxiliares:

ANANIAS PORTO, Dipl. Med.
FAVORINO PRADO JUNIOR, Dipl. Med.
GOSWIN KARMANN, Dipl. Quim. Ind.
JOSÉ IGNACIO LOBO, B. Cienc. & L., Dipl. Med. (D. M.), Livre docente Clin. Med. da Fac. Med. S. Paulo, Prof. Clin. Doenças Tropicais Esc. Paul. Med.
LAURA COMETTE TABORDA, B. Cienc. & L., Dipl. Quim.
WOLFGANG BÜCHERL, Dipl. Fil. Biol. (D. Fil. Biol.)

Toda a correspondência científica, relativa às "Memórias", deve ser dirigida ao
Editor, MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN
Caixa Postal 65
SÃO PAULO, BRASIL.


cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16 17

598.1286

NOTAS OFIOLÓGICAS

13. Redescrição de duas serpentes colombianas

POR

ALCIDES PRADO

Consta êste trabalho da determinação de um lote de serpentes enviado pelo revmo. Irmão Nicéforo Maria, do Instituto de La Salle, de Bogotá, em princípios do ano passado.

Dêsse lote foram determinadas, sem tergiversação as espécies *Leptodeira annulata* (L.), *Atractus colombianus* PRADO, *Atractus crassicaudatus* (D. & B.) e *Liophis reginae albiventris* JAN. Sôbre esta última, aliás uma subespécie, tive ocasião de manifestar-me em trabalho anterior.

Duas, porém, *Rhadinae purpurans* (D. & B.) e *Dipsas tolimensis* PRADO, a primeira própria da parte setentrional da América do Sul, e a segunda da Cordilheira Central da Colômbia, são aqui redescritas, sem, no momento, cogitar-se da posição sistemática do gênero *Rhadinae*, a que a primeira pertence.

Rhadinae purpurans (DUMERIL & BIBRON, 1854)

No. 207, adulto ♀, na coleção do Colégio del Sagrado Corazón, de Cúcuta, na Colômbia, procedente de Puerto Asis, nas proximidades do Equador, com data de captura: novembro de 1940.

Esta espécie, ainda não assinalada na Colômbia, tem por habitat as áreas próximas à linha equatoriana.

Dentes maxilares 19, aumentados gradativamente de tamanho de diante para trás, separados dos dois últimos, pouco desenvolvidos, por um curto intervalo (equivalente mais ou menos à queda de um dente). Cabeça levemente distinta do pescoço; olho moderado, com pupila redonda. Corpo cilindrico; escamas lisas, sem fossetas apicilares, em 17; ventrais não angulosas; subcaudais pares.

Rostral mais larga do que alta, visível de cima; internasais tão largas quanto longas, mais curtas do que as prefrontais; prefrontais mais longas do que largas; frontal duas vêzes tão longa quanto larga, pouco mais longa do que sua distância da extremidade do focinho, mais curta do que as parietais; parietais tão longas quanto sua distância das internasais; loreal mais alta do que longa; 1 pre- e 2 postoculares; temporais 1-2; 8 supralabiais, 4.ª e 5.ª junto ao olho; 10 infralabiais, 5 tocando a mental anterior, que é tão longa quanto a posterior. Escamas em 17. Ventrais 156; anal dividida; subcaudais 55/55.

Pardo-olivácea, em cima, com duas tênues estrias longitudinais claras, uma para cada lado, principalmente visíveis na metade posterior do corpo; duas outras, uma para cada lado da cabeça que, partindo da comissura dos lábios, vão pouco além do pescoço; lábios superiores levemente esbranquiçados; ventre, com exceção da parte caudal, que é imaculada, e das porções gulares e do pescoço, que são marmóreas, com manchas transversais negras e irregulares.

Comprimento total 338 mm; cauda 58 mm..

Dipsas tolimensis Prado, 1941

♂ — Corpo fortemente comprimido dos lados. Cabeça distinta do pescoço. Olho grande; pupila eliptica-vertical.

Rostral pouco mais larga do que alta, apenas visível de cima; nasal semi-dividida; internasais muito mais largas do que longas, cêrca de metade do comprimento das prefrontais; prefrontais, igualmente, muito mais largas do que longas; frontal tão larga quanto longa, tão longa quanto sua distância da extremidade do focinho, muito mais curta do que as parietais; loreal pouco mais alta do que lònga, junto ao olho; supraoculares subtriangulares, muito largas; preocular triangular, pequena e acima da loreal; 1/2 postoculares; temporais 1-3; 8 supralabiais, 4.ª e 5.ª em contacto com o olho, a última alongada; 11 infralabiais, 2 primeiros pares em contacto, na linha mediana, por trás da sinfisial; 2 pares de mentais largas, anterior maior. Escamas lisas, sem fossetas apicilares, as vertebrais moderadamente alargadas, em 15. Ventrais 168; anal inteira; subcaudais 65/65.

Cinza-olivácea em cima, com largas faixas transversais cinza-negras, em número de 21, as primeiras, na metade anterior do corpo, muito regulares, formam como que verdadeiros aneis, completando-se ventralmente; os intervalos são pontilhados de cinza-negro, em série transversal; cabeça cinza-negra, cortada por um leve traço occipital; ventre da côr geral, atravessado por faixas negras, regulares na porção anterior, e irregulares na posterior.

Comprimento total 264 mm; cauda 54 mm..

Holotipo, adulto ♂, sob o No. 204, na coleção do museu do Colégio del Sagrado Corazón, de Cúcuta, Colômbia.

Procedência: Libano (Tolima), na Cordilheira Central, com data de captura: outubro de 1940.

Próxima a *Dipsas nicefori* Prado, também da Cordilheira Central, que se distingue da espécie em discussão, pelos seguintes caracteres específicos, além do colorido geral, inteiramente diverso: frontal pouco mais larga do que longa; 2/3 postoculares; temporais 2 + 3; 3 pares de mentais; ventrais 176; subcaudais 73/73.

RESUMO

Neste trabalho de determinação de um pequeno lote de serpentes colombianas, redescrevem-se *Rhadinae purpurans* (D. & B.), assinalada aí pela primeira vez, e *Dipsas tolimensis* Prado, capturada na Cordilheira Central, e afim de *Dipsas niceforoi* Prado.

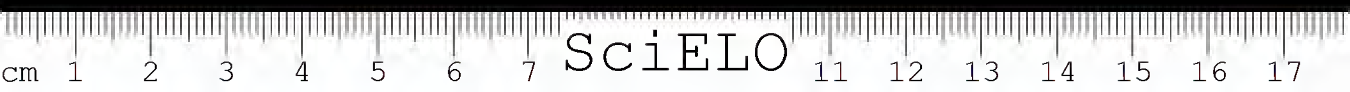
ABSTRACT

In this paper on the identification of a small lot of Colombian snakes, *Rhadinae purpurans* (D. & B.), there found for the first time, and *Dipsas tolimensis* Prado, caught in the central Andes, and similar to *Dipsas niceforoi* Prado, are being described.

BIBLIOGRAFIA

Boulenger, G. A. — Cat. Sn. Brit. Mus. 2:167.1894.
Prado, A. — Mem. Inst. Butantan 14:13.1940.
Prado, A. — Ciência 2(10-12):345.1941.

(Trabalho da Seção de Ofiologia e Zoologia Médica do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 25 de março de 1942 e dado à publicidade, em separado, em setembro de 1942).


SciELO

Mem. Inst. Butantan
Vol. XVI — 1942



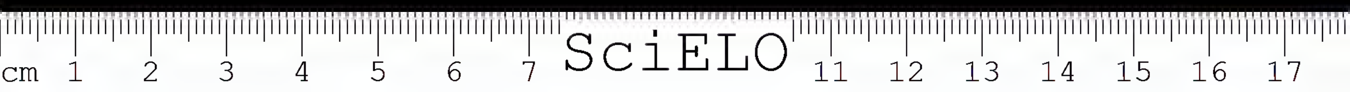
Rhadinae purpurans (D. & B.)







Dipsas tolimensis Prado


cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16 17

598.12

NOTAS OFIOLÓGICAS

14. Comentários acêrca de algumas serpentes opistóglifas do gênero *Apostolepis*, com a descrição de uma nova espécie.

POR

ALCIDES PRADO

A espécie que neste trabalho descrevo como nova, dentre as serpentes opistóglifas do gênero *Apostolepis*, enquadra-se no grupo II. A. da chave de Boulenger, onde também se encontram *A. flavotorquata* (D. & B.) e *A. nigrolineata* (PETERS), acrescidas de outras, posteriormente descritas, tais como: *A. pymi* BOULENGER e *A. sanctae-ritae* WERNER.

Entretanto, essas quatro espécies, na realidade se reduzem a três somente: enquanto as três primeiras me pareceram de indiscutível valor em sistemática, a última, *A. sanctae-ritae*, deve caber na sinonímia de *A. flavotorquata*, a levar-se em conta o exame do tipo, procedido por Amaral, no Museu de Viena.

Werner, comparando sua espécie com *A. flavotorquata* e *A. pymi*, considerou-a distinta por possuir a 3.ª e 4.ª supralabiais em contacto com o olho, e a 5.ª e 6.ª em contacto com a parietal, ao invés da 2.ª e 3.ª e 4.ª e 5.ª, respectivamente; ainda a existência da separação entre a nasal e a preocular.

Amaral verificou que são a 2.ª e 3.ª e a 4.ª e 5.ª que tocam, respectivamente, a órbita e a parietal, e que a separação entre a nasal e a preocular é um caráter desprovido de importância específica.

Restam, pois, considerar-se como boas as espécies *A. flavotorquata*, que foi descrita em 1854, por Duméril & Bibron, de um exemplar de sexo não especificado, procedente de Goiás, Brasil, e pertencente à coleção de Castelnau-Deville; *A. nigrolineata*, divulgada em 1869, por Peters, de sexo e habitat desconhecidos; e *A. pymi*, dada à publicidade em 1903, por Boulenger, a qual foi descrita de um único exemplar macho, de procedência não mencionada, do Brasil.

Lorenz Müller, mais tarde, deu-a como encontradiça em Benevides, no Pará. Deste Estado o Museu Britânico, segundo Amaral, conserva um espécime proveniente de Igapé-Assú.

Em suma, coloco *A. goiasensis*, sp. n., como próxima a *A. flavotorquata* e *A. pymi*, em que os caracteres específicos destas são comparáveis com os daquela, sendo que o habitat da primeira é igual ao da segunda, e diverso da terceira.

Todas elas, porém, se afastam do grupo onde se inclue *A. coronata* (SAUVAGE), também existente no Brasil, por não possuirem uma única supralabial em contacto com a parietal.

Apostolepis goiasensis, sp. n.

♀ — Cabeça pequena, não distinta do pescoço; corpo cilíndrico e alongado. Focinho fracamente projetado; olho minúsculo. Rostral quasi tão larga quanto alta, parte visível de cima quasi metade da sua distância da frontal; internasais fundidas com as prefrontais; frontal uma vez e dois terços tão longa quanto larga, tão longa quanto sua distância da extremidade do focinho, mais curta do que as parietais, que são duas vêzes tão longas quanto largas; nasal inteira, separada da preocular, que é única; 1 postocular muito pequena; 5 supralabiais, 2.ª e 3.ª em contacto com o olho, e 4.ª e 5.ª com a parietal; 4 infralabiais em contacto com a mental anterior, que é tão longa quanto a posterior, 1.º par, na linha mediana, em contacto, por trás da sinfisial. Escamas lisas, sem fossetas apicilares, em 15. Ventrais 237; anal dividida; subcaudais 25/25.

Avermelhada em cima, com 3 tênues linhas longitudinais pardo-negras sôbre o dorso, a mediana mais nítida; face superior da cabeça e nuca pardo-negra, com duas entradas laterais claras sôbre esta última; lábios superiores e partes inferiores branco-amarelados; face superior da extremidade da cauda negra, com a placa terminal branco-amarelada.

Comprimento total 408 mm; cauda 30 mm..

Holotipo, adulto ♀, sob o No. 10.260 na coleção do Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil.

Procedência: Rio Verde, Estado de Goiás, Brasil.

Colecionado por Garbe, e oferecido pela Seção de Parasitologia deste Instituto, em 20-1-942.

As espécies *A. flavotorquata* e *A. pymi* lhe são afins.

A primeira difere da espécie em estudo pelos caracteres específicos seguintes: parte visível da rostral, em cima, cêrca de uma vez e dois terços da sua distância da frontal; frontal uma vez e meia tão longa quanto larga; nasal em contacto com a preocular; 6 supralabiais; 5 infralabiais em contacto com a mental anterior; ventrais 250; nenhuma linha longitudinal, listra ou raia sôbre o

dorso e flancos, que são vermelhos, apenas com a cabeça negra em cima, e um esboço de colar amarelado, ladeado de negro, através da garganta, e lateralmente a nuca; cauda negra em cima, em seu terço posterior.

A segunda apresenta os seguintes caraterísticos diferenciais: rostral apenas visível de cima; nasal em contacto com a preocular; 6 supralabiais; ventrais 209; subcaudais 35/35; côr apenas distinguível.

RESUMO

Neste trabalho, discute-se a posição em sistemática de algumas *Apostolepis*, Colubrídeas opistóglifas, pertencentes ao grupo II. A. da chave de Boulenger, 1896, entre as quais se acrescenta a descrição de uma nova espécie, *Apostolepis goiasensis*, sp. n., de um exemplar procedente do Estado de Goiás, Brasil, afim de *A. flavotorquata* (D. & B.) e *A. pymi* BOULENGER.

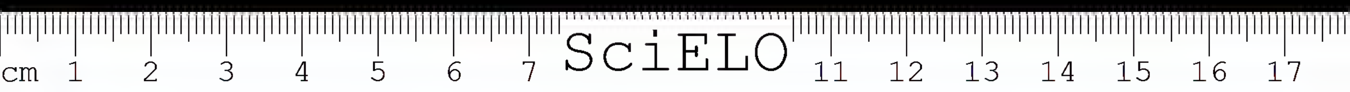
ABSTRACT

In this paper the systematic position of some *Apostolepis*, opisthoglyph *Colubridae* is being discussed, belonging to group II. A. of Boulenger's key, 1896, among which a new species *Apostolepis goiasensis*, n. sp., is being described of a specimen provenient from the State of Goiás, Brazil, similar to *A. flavo-torquata* (D. & B.) and *A. pymi* BOULENGER.

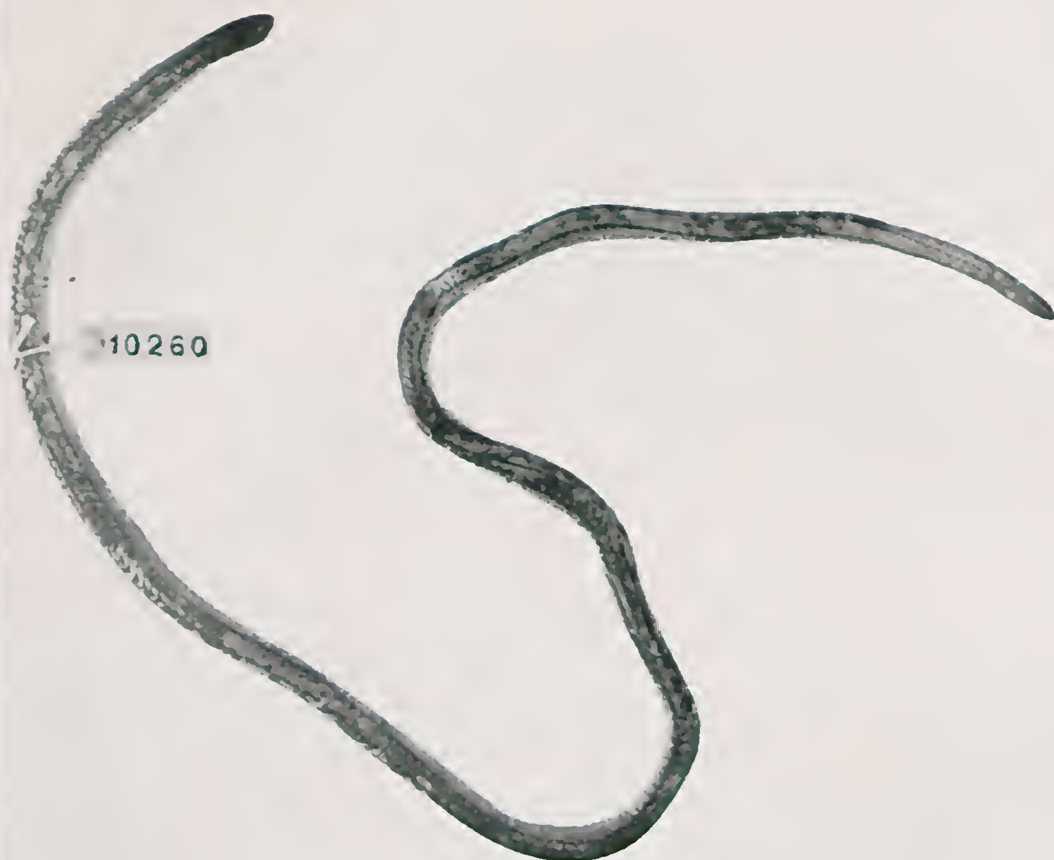
BIBLIOGRAFIA

Duméril, A. & Bibron, G. — Erp. Gen. 7: 836. 1854.
Boulenger, G. A. — Cat. Sn. Brit. Mus. 3: 233. 1896.
Boulenger, G. A. — Ann. & Mag. Nat. Hist. (7) 12: 538. 1903.
Amaral, A. do — Mem. Inst. Butantan 4: 50-225. 1930.

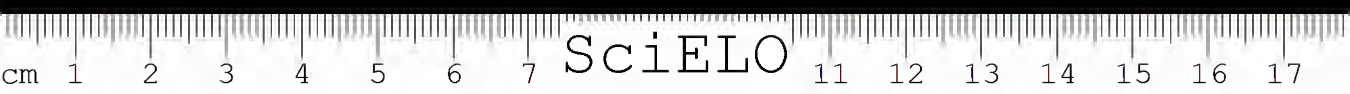
(Trabalho da Seção de Ofiologia e Zoologia Médica do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 25 de março de 1942 e dado à publicidade, em separado, em setembro de 1942).


cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16 17

Mem. Inst. Butantan
Vol. XVI — 1942



Apostolepis goiasensis, sp. n.


cm 1 2 3 4 5 6 7
SciELO
11 12 13 14 15 16 17

591.156:595.62

ESTUDO COMPARADO DOS ÓRGÃOS SEXUAIS EXTERNOS DOS QUILÓPODOS DO BRASIL, BASEADO NOS GÊNEROS *SCOLOPENDRA* L., 1758, *OTOSTIGMUS* PORAT, 1876, *RHYSIDA* WOOD, 1862, *CRYPTOPS* LEACH, 1815, *SCOLOPOCRYPTOPS* NEWPORT, 1844, E *OTOCRYPTOPS* HAASE, 1887.

POR

WOLFGANG BÜCHERL

INTRODUÇÃO

No nosso primeiro trabalho sôbre *"Os orgãos sexuais do gênero* **Scolopendra**", a ser publicado conjuntamente com êste, já salientamos a grande necessidade de serem considerados os referidos órgãos como fatores principais da sistemática, como aliás já vem sendo feito nos outros grupos zoológicos. Esta necessidade torna-se imperiosa justamente no gênero *Otostigmus*, onde, como já referiu Verhoeff num trabalho de 1937, reina ainda grande confusão a respeito da sistemática de grandes grupos, confusão esta que o próprio autor não conseguiu diminuir, como êle mesmo se vê obrigado a confessar.

Movido pelo desejo de prestar nossos serviços para o esclarecimento dos pontos fracos da sistemática principalmente no gênero *Otostigmus*, com seus subgêneros, realizamos pesquisas sôbre os órgãos sexuais externos deste grupo e de outros, dos quais a coleção quilopódica do Instituto Butantan possue grande número de exemplares, machos e fêmeas, adolescentes e adultos.

O precioso material, em número acima de 100 exemplares, na grande maioria obtidos vivos e depois convenientemente preparados para o estudo, divide-se da seguinte maneira:

Família: *SCOLOPENDRIDAE*
Subfamília: *OTOSTIGMINAE*
Gênero: **Otostigmus** Porat
Espécies: *Otostigmus (C.) cavalcantii* Bücherl, 1939
" *(P.) tibialis* Bröl., 1902
" *(A.) scabricauda* (Humb. & Sauss.), 1870
" *(A.)* " *demelloi* (Verh.), 1937
" *(A.) rex* Chamb., 1914 (fêmea de *scabricauda*)
" *(P.) pradoi* Bücherl, 1939
" *(P.) tibialis* Bröl., 1902
Gênero: **Rhysida** Wood
Espécie: *Rhysida brasiliensis* Krpln., 1903
Família: *CRYPTOPIDAE*
Subfamília: *CRYPTOPINAE*
Gênero: **Cryptops** Leach
Espécie: *Cryptops (Trig.) iheringi* Bröl., 1902
Subfamília: *SCOLOPOCRYPTOPINAE*
Gênero: **Scolopocryptops** Newport
Espécie: *Scolopocryptops miersii puruensis* Bücherl, 1941
Gênero: **Otocryptops** Haase
Espécie: *Otocryptops ferrugineus ferrugineus* (L.), 1767.

MATERIAL E MÉTODO

Todas as espécies acima enumeradas, foram mandadas vivas para êste Instituto durante os anos de 1939, 1940 e 1941. Após conveniente anestesia foram injetadas por via intraintestinal até os órgãos sexuais externos, retraidos naturalmente dentro da cavidade do último segmento do tronco, aparecerem em estado normal. Depois procedemos à classificação, separando os machos das fêmeas e fazendo séries de adolescentes e adultos de ambos os sexos. Foram retirados os órgãos sexuais externos de macho e fêmea de cada espécie e, depois de deshidratados e diafanizados, montados em bálsamo do Canadá.

O estudo comparado da morfologia dos órgãos sexuais foi feito com o auxilio da lupa, dentro de 10 a 40 vêzes de aumento. Em casos especiais recorremos também ao microscópio.

Todo o material que serviu para o presente estudo acha-se devidamente conservado e fichado na coleção do Instituto Butantan.

ESTUDO COMPARADO E DISCUSSÃO

1. *Otostigmus (Coxopleurotostigmus) cavalcantii*

(Vide Fotos Nos. 1 e 2)

MÉDIA DAS MEDIDAS DA SÉRIE

	Macho	Fêmea
Comprimento total	45 — 48 mm	46 — 49 mm
Largura do 12.° tergito	3,2 — 3,4 mm	3,5 — 3,6 mm
Comprimento do esternito genital	0,8 mm	0,9 mm
" " " postgenital	0,2 mm	
" " órgão copulador	0,7 mm	
" " tergito anal	0,9 — 1,1 mm	0,9 — 1,1 mm

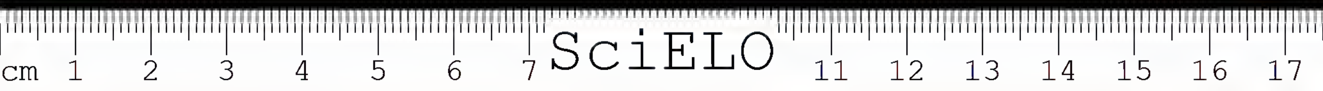
Na fêmea desta espécie (Foto No. 1) a primeira membrana intermediária (entre o último segmento do tronco e a região gênito-anal) é muito curta na zona ventral mediana, de maneira que quasi não é visivel deste lado. Na região pleural, porém, ela se salienta bem, formando algumas dobras, que se estreitam novamente na região do tergito anal.

O esternito genital (Foto No. 1), coberto por pêlos muito pequenos e pouco numerosos, apresenta forma triangular, com bordos laterais curvos e bordo posterior arredondado. Na linha ventral mediana ha uma ligeira saliência longitudinal.

A abertura genital (a) tem forma semi-lunar, sendo de dimensões bastante avantajadas, mais larga do que longa, de posição transversal, apresentando em ambos os lados uma pequena apófise interna, de quitina mais espêssa do que as zonas adjacentes. Suas paredes internas são lisas, sem pregas sensíveis, apresentando apenas leve revestimento quitinoso, de maneira a gozar de grande elasticidade.

O tergito anal tem bordo posterior redondo e bordos laterais ligeiramente divergentes, com cantos posteriores arredondados, salientando-se uma ligeira elevação longitudinal na área mediana, de resto coberta por pêlos curtos e pouco numerosos. O tergito anal apresenta quitina mais espêssa do que o esternito genital (4).

As "laminae adanales" unem-se atrás, perto da cratera anal, terminando numa ponta (Foto No. 1,5). A "adanalis superior" estabelece o contacto com o bordo lateral do tergito anal, enquanto que a inferior se limita com o bordo externo posterior da abertura genital. Também as lâminas adanais apresentam pêlos muito pequenos e pouco numerosos.



No macho o esternito genital (Foto No. 2,1), o tergito anal (2,4) e as lâminas adanais (2,5) apresentam o mesmo aspecto que na fêmea.

O esternito postgenital (2,2) é muito pequeno, ficando quasi completamente encoberto pelo esternito genital.

O órgão copulador apresenta a forma de cunha (2,3), com a abertura genital estreita e longa, situada no lado ventral. Os lados do órgão copulador são formados por duas placas, fracamente quitinizadas, de forma triangular, terminando atrás numa ponta. Ventralmente formam dois bordos, um externo inteiro e um interno desfeito em franjas pequenas. Não existem pêlos no órgão copulador. As duas placas laterais são unidas dorsalmente por uma membrana, bastante larga no lado apical e terminando atrás numa ligeira ponta.

O macho se distingue facilmente da fêmea pela presença do esternito postgenital e, antes de tudo, pelo órgão copulador, sempre bem visivel em todos os machos. Por outro lado a fêmea pode ser reconhecida como tal pela abertura genital semilunar, de forma muito caraterística.

Quanto ao colorido dos escleritos da região gênito-anal ha grande dificuldade de distinguí-los das membranas adjacentes, porque todas as zonas, quer se trate de membranas quer de escleritos, apresentam côr de cinza suja. Apenas a presença de pêlos em áreas circunscritas indica os limites exatos dos escleritos (esternito genital, postgenital, lâminas adanais e tergito anal), o que é muito importante nas zonas onde não ha bordos, como na lâmina adanal inferior.

Esta uniformidade no colorido pode ser constatada aliás na região gênito-anal de todos os gêneros da família *Scolopendridae*, quer se trate de espécies da subfamília *Scolopendrinae* ou da subfamília *Otostigminae*. Ao contrário notamos que os escleritos da família *Cryptopidae* com as duas subfamílias *Cryptopinae* e *Scolopocryptopinae* apresentam uma côr vermelha ou amarela, enquanto que as membranas são incolores ou ligeiramente cinzentas.

Quanto ao segundo grupo, observa-se em cortes transversais pelas camadas quitinosas dos escleritos que a epi- e exocuticula conservam a mesma espessura que nos tergitos e esternitos do tronco, enquanto que nas membranas estas duas camadas são muito finas. Na família *Scolopendridae*, porém, já são mais finas do que nos tergitos e esternitos mesmo nos escleritos gênito-anais.

Além dos caracteres sexuais supra enumerados, os machos e fêmeas de *Otostigmus cavalcantii* podem ser facilmente distinguidos ainda pelos chamados "caracteres sexuais secundários", independentemente da inspeção dos órgãos genitais. Êstes caracteres secundários só existem nos machos adultos e adolescentes, nunca nas fêmeas. Consistem num apêndice digitiforme, cilindrico, que constitue um prolongamento do último tergito do tronco (Foto No. 2.c) e ainda no apêndice coxopleural (Foto No. 2.b), formado por uma apófise quitinizada, com aspecto

de espinho grande, curvo, que constitue um prolongamento do campo poroso. Ambos êstes caracteres são sempre facilmente visíveis em todos os machos, qualquer que tenha sido seu estado de conservação. Na fêmea faltam totalmente, como se pode ver confrontando os dois Fotos Nos. 1 e 2.

O apêndice do tergito é mais longo do que o próprio tergito (tergito: 1,30-1,50 cm; apêndice: 2-2,20 cm), como já tivemos a oportunidade de referir ao descrever esta espécie nova (Rev. Biol. e Hyg. **10** (1):54-57.1939). O apêndice é achatado na ponta terminal, apresentando em cada lado uma ligeira cavidade, coberta por fileiras de pêlos longos e vermelhos. Êstes vão todos numa só direção dorso-ventral, medindo entre 0,3-0,4 mm de comprimento.

Machos e fêmeas desta espécie ainda apresentam a particularidade de terem o prefêmur subdividido por uma fossa circular, particularidade esta comum com outras espécies do gênero *Otostigmus* (Fotos Nos. 1 e 3).

2. *Otostigmus* (*Dactylotergitius*) *caudatus*

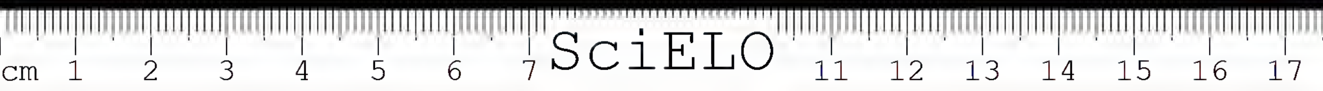
MÉDIA DAS MEDIDAS DA SÉRIE

	Macho	Fêmea
Comprimento total	40 — 45 mm	41 — 49 mm
Largura do 12.° tergito	3,4 — 3,7 mm	3,5 — 3,8 mm
Comprimento do esternito genital	0,6 — 0,8 mm	0,5 — 0,7 mm
" " " postgenital	0,1 — 0,3 mm	
" " órgão copulador	0,5 — 0,8 mm	
" " tergito anal	0,7 — 0,9 mm	0,7 — 0,9 mm

Os órgãos sexuais dos machos e das fêmeas desta espécie não se distinguem em nada que seja essencial da espécie *Otostigmus cavalcantii*. Isto vale principalmente no tocante aos órgãos sexuais do macho. Apenas o esternito genital da fêmea apresenta uma saliência mediana, longitudinal, muito mais profunda e mais nítida do que a fêmea de *cavalcantii*.

Todos os escleritos são revestidos de pêlos pequenos e pouco numerosos.

Em *Otostigmus caudatus* existe igualmente um caraterístico sexual secundário que permite distinguir os sexos sem a inspeção dos próprios órgãos sexuais. Consiste num apêndice digitiforme, que forma a continuação direta do último tergito (vigésimo primeiro tergito) do tronco do macho. A fêmea carece deste apêndice. Êle tem a mesma forma que o apêndice em *cavalcantii*, sendo de notar apenas que é muito mais curto e mais delgado, não atingindo nunca o comprimento do tergito, enquanto que em *cavalcantii* sempre excede o comprimento deste.



Também nesta espécie encontra-se uma subdivisão do prefêmur do último par de patas, subdivisão esta um tanto mais nítida nas fêmeas. Não se trata de uma articulação, mas apenas de um sulco profundo circular que destaca o último quarto do prefêmur.

3. *Otostigmus (Androtostigmus) scabricauda*

(Vide Foto No. 3)

MÉDIA DAS MEDIDAS DA SÉRIE

	Macho	Fêmea
Comprimento total	63 — 72 mm	64 — 79 mm
Largura do 12.° tergito	5,5 — 5,8 mm	6,5 — 6,8 mm
Comprimento do esternito genital	0,5 — 0,7 mm	0,8 — 1,1 mm
" " " postgenital	0,1 — 0,3 mm	
" " órgão copulador	0,5 — 0,7 mm	
" " tergito anal	0,6 — 0,9 mm	0,3 — 1,5 mm

Na fêmea (Foto No. 3, à direita) a primeira membrana intermediária é muito estreita na parte ventral mediana, alargando-se consideravelmente em ambos os lados, na zona pleural. Na zona dorsal, na região do tergito anal, ela é duas vêzes mais longa do que no lado ventral, apresentando bordo posterior reto. É de grande elasticidade, sem apresentar zonas de quitina mais espêssa.

O esternito genital é igualmente muito elástico, sendo contudo constituído por uma camada contínua de quitina. Na linha mediana não ha depressão sensível. O bordo posterior é ligeiramente saliente. As zonas laterais do esternito confundem-se com as porções pleurais da primeira membrana intermediária, sendo apenas nitidamente demarcadas no bordo posterior.

A abertura genital é semi-circular, mais larga do que longa, com uma apófise interna transversal em ambos os lados. Seu revestimento interno é como na fêmea de *cavalcantii*.

O tergito anal é um pouco mais largo do que longo, com bordos distintamente demarcados; com quitina uniforme, pouco espêssa, porém mais dura do que em qualquer outro esclerito da região gênito-anal. O bordo anterior é reto e nitidamente separado por um sulco transversal da primeira membrana intermediária. Os lados são ligeiramente recurvados. O bordo posterior é muito curvado, principalmente na zona mediana. A área mediana do tergito apresenta uma depressão longitudinal nítida, a extinguir-se na frente e atrás, e mais outra depressão transversal, pouco nitida, a cruzar a primeira.

No segmento anal notam-se ainda as duas "laminae adanales", cobertas de poucos pêlos, sendo a inferior melhor desenvolvida do que a superior. A base da primeira é estreita, principiando na zona lateral da abertura genital. Em seguida descreve uma curva em direção à zona ventral mediana, dirigindo-se então em linha reta para trás, onde se une com a parte terminal de uma segunda apófise quitinizada, que vem da zona pleural (Foto No. 3,5).

A lâmina adanal posterior é menor, estabelecendo de um lado contacto com os bordos laterais do tergito anal e do outro com a ponta terminal da primeira lâmina.

As partes terminais das duas lâminas são muito engrossadas por membranas espêssas que vêm a formar as zonas ventro-lateral e látero-dorsal da cratera anal. As membranas que revestem as pontas terminais das quatro lâminas adanais apresentam uma incisão ventro-longitudinal profunda e outra, atravessada, menos profunda, de maneira que a cratera anal, redonda, é dividida por estas incisões em quatro partes mais ou menos simétricas.

O aspecto geral da região gênito-anal do macho (Foto No. 3, à esquerda) é idêntico ao observado na fêmea no tocante à côr, à quitinização e à distribuição dos pêlos curtos.

O esternito genital se estende muito para trás, na linha mediana. Os bordos laterais seguem, no começo, em linha reta para trás, depois descrevem uma breve curva, dirigindo-se então para o bordo curvo. Os lados do esternito são muito deprimidos, sendo notável também a existência de uma saliência longitudinal mediana, que se bifurca na zona posterior do esclerito, vindo os dois ramos a terminar nos bordos laterais do mesmo, perto da ponta mediana.

Do esternito post-genital observa-se muito pouco devido ao seu tamanho exíguo. É levemente sulcado na linha mediana, formando suas áreas laterais uma bainha ventro-lateral em que se encontra o órgão copulador.

Êste tem a forma de cunha, apresentando a mesma constituição morfológica como o órgão copulador do macho de *cavalcantii*.

O segmento anal apresenta-se como na fêmea, sendo menores apenas as "laminae adanales".

Também nesta espécie existem caracteres sexuais secundários, sempre fàcilmente visíveis, mesmo a olho nú e presentes apenas nos machos, mesmo nos adolescentes, sob a forma de um apêndice longo, preso no lado interno dos dois prefêmures do último par de patas. Os apêndices são mais longos do que os prefêmures, sendo muito engrossados atrás, onde terminam numa placa circular, ligeiramente côncava, coberta de pêlos longos, ruivos (Foto No. 3,c).

4. *Otostigmus scabricauda demelloi*

Os órgãos sexuais desta subespécie em nada diferem dos da espécie.

No tocante ao dimorfismo sexual, por Verhoeff considerado grande, abrangendo novas modalidades morfológicas principalmente na fêmea, devemos salientar que nesta subespécie não existe outro dimorfismo a não ser o mesmo apêndice interno nos prefêmures dos machos, ausente nas fêmeas. Quanto ao resto não há outros caracteres morfológicos divergentes em ambos os sexos. Aliás Verhoeff em "Ueber einige Chilopoden aus Australien und Brasilien", Zool. Jahrb. Syst. **70** (1/2) :11-15.1937, descreve *demelloi* como espécie muito bem separada de *scabricauda*. As afirmações do autor já foram por nós examinadas à mão de numeroso material, machos e fêmeas, em "Os Quilópodos do Brasil", Mem. Inst. Butantan **13**:261-264.1939, onde fizemos uma redescrição de *Otostigmus scabricauda* (Humb. & Sauss.), 1870, chegando então à conclusão de que a espécie de Verhoeff era apenas uma subespécie da primeira.

Podemos confirmar novamente esta nossa opinião pelo confronto de machos e fêmeas de *scabricauda* e de *scabricauda demelloi* (Verh.).

Os órgãos sexuais externos de ambas as formas não se distinguem em nada.

O dimorfismo sexual, sôbre o qual Verhoeff fundou sua nova espécie (principalmente das fêmeas), só se manifesta pela presença de um apêndice no lado interno do prefêmur do último par de patas dos machos. A fêmea carece deste apêndice. Isto vale tanto para a *scabricauda* como para a *demelloi*.

Para a última Verhoeff refere ainda outros caraterísticos sexuais secundários, como sejam:

Macho	*Fêmea*
Com depressões profundas em todos os esternitos;	Sem depressão nos esternitos;
Sempre com esporão tarsal;	20.ª pata sem esporão tarsal;
Últimos tergitos com rugosidades, muitos nódulos, leves quilhas e espinhos curtos;	Tergitos lisos, sem rugosidades e sem nódulos, nem espinhos;
Do 5.º tergito para trás já existem pseudocarenas.	Sem pseudocarenas nos tergitos;

No nosso trabalho, acima citado, já afirmamos que tudo o que Verhoeff diz a respeito da fêmea não corresponde absolutamente aos resultados das nossas observações. Pelo contrário, ela apresenta sempre, mesmo já como "adolescens", depressões, esporões tarsais no penúltimo par de patas, rugosidades, nódulos, qui-

lhas e pseudocarenas como no macho, apenas carecendo do apêndice prefemural do último par de patas.

Mas de onde tirou Verhoeff suas afirmações? Ouçamos o próprio autor: "Ainda não se realizaram observações suficientes sôbre o dimorfismo dos sexos no gênero *Otostigmus*, principalmente porque estas observações não estão isentas de grandes dificuldades. O precioso material deve ser tratado com cuidado, sendo que, pela sua conservação em alcool, se acha quasi sempre num estado de tão forte contração que não se pode pensar mais em fazer aparecer a região genital. Êste último caso também se verifica com o autor no tocante ao material que serviu para a descrição do dimorfismo sexual da espécie *Otostigmus demelloi*. Porisso não se pode deixar de declarar que *tudo o que acaba de ser estabelecido sôbre o dimorfismo entre macho e fêmea da nova espécie pode apenas ser considerado como provável e não como absolutamente certo.*"

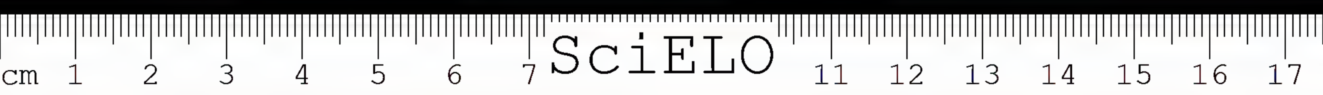
A hesitação do nosso colega Verhoeff e sua curiosa descrição da fêmea da nova espécie nos fez proceder ao exame minucioso do copioso material, depositado na coleção quilopódica do Instituto Butantan. Quanto às espécies *scabricauda* e *demelloi* chegamos às seguintes conclusões:

1.º É sempre fácil distinguir os machos das fêmeas, mesmo em material por longo tempo conservado em meio alcoólico, independentemente da consideração da região gênito-anal, unicamente pela ausência ou presença do apêndice prefemural do macho. Êste apêndice mede entre 4,1 - 4,4mm (o prefêmur mede entre 3,5 - 3,8 mm) de comprimento mínimo e 8,1 - 10,1mm de comprimento máximo por 0,9 - 1,7mm de espessura e consta de quitina, de maneira que, mesmo por longa conservação em alcool, não está sujeito a retrações, sendo, portanto, sempre facilmente visível.

2.º Nas citadas espécies não ha outro dimorfismo dos sexos, de maneira que em tudo as fêmeas são iguais aos machos.

3.º Os caraterísticos morfológicos que Verhoeff atribue à fêmea de *demelloi* são tão aberrantes que se pode afirmar com toda a certeza que o autor teve à mão uma fêmea de outra espécie, até então ainda não descrita. Os caraterísticos, portanto, não são a expressão dum dimorfismo dos sexos, mas constituem caracteres de uma nova espécie.

De fato a fêmea que o autor descreveu indiretamente foi reconhecida por nós como sendo a fêmea de *Otostigmus cavalcantii* BÜCHERL. Esta, sim, tem o mesmo tamanho, o mesmo colorido verde azulado metálico, esternitos sem cavidades, tergitos lisos, sem nódulos, sem quilhas, sem espinhos e sem pseudocarenas.



Quanto à espécie *Otostigmus rex* CHAMB., 1914, devemos salientar que, pelas pesquisas dos órgãos sexuais externos chegamos à conclusão de tratar-se de fato de fêmea de *Otostigmus scabricauda*, com a qual, aliás, concorda a descrição da morfologia geral.

5. *Otostigmus (Parotostigmus) pradoi*

MÉDIA DAS MEDIDAS DA SÉRIE

	Macho	Fêmea
Comprimento total	42 — 47 mm	43 — 49 mm
Largura do 12.° tergito	3,4 — 3,7 mm	3,5 — 3,8 mm
Comprimento do esternito genital	0,5 — 0,7 mm	0,5 — 0,7 mm
" " " postgenital	0,2 — 0,4 mm	
" " órgão copulador	0,5 — 0,7 mm	
" " tergito anal	0,6 — 0,8 mm	0,7 — 0,8 mm

Os órgãos sexuais externos dos machos e das fêmeas desta espécie não se distinguem sensivelmente dos da espécie *scabricauda*, de maneira que podemos dispensar uma descrição topográfica dos mesmos. Apenas o esternito genital da fêmea apresenta uma pequena fossa longitudinal mais nítida do que aquela espécie. Seu bordo posterior é quasi reto.

Como dimorfismo dos sexos deve ser apontado o apêndice agudo, existente no lado interno da tíbia do último par de patas do macho, ausente na fêmea. Êste apêndice se estende geralmente também até ao fêmur, como mostra o desenho No. 2, à página 445 do Boletim Biológico **4** (3). 1939. O apêndice está presente já nos adolescentes, de maneira que sempre se podem distinguir facilmente os machos das fêmeas, mesmo sem a inspeção dos próprios órgãos genitais externos.

6. *Otostigmus (Parotostigmus) tibialis*

As medidas dos órgãos sexuais externos revelam grande uniformidade entre esta espécie e a precedente, de maneira que não ha necessidade de uma nova descrição dos mesmos.

Também existe dimorfismo sexual sob a forma de um apêndice na tíbia do último par de patas nos machos, apêndice êste muito menor do que em *pradoi*, mas sempre bem visível, mesmo nos adolescentes. Êste apêndice está ausente nas fêmeas, de maneira que constitue um bom caraterístico para distinguir facilmente os sexos.

7. *Rhysida brasiliensis*

MÉDIA DAS MEDIDAS DA SÉRIE

	Macho	Fêmea
Comprimento total	68 — 77 mm	69 — 81 mm
Largura do 12.° tergito	6,5 — 7 mm	6,5 — 7,1 mm
Comprimento do esternito genital	0,4 — 0,7 mm	0,4 — 0,6 mm
" " " postgenital	0,2 — 0,3 mm	
" " órgão copulador	0,5 — 0,7 mm	
" " tergito anal	0,6 — 0,8 mm	0,5 — 0,8 mm

Os escleritos da região gênito-anal dos machos e das fêmeas desta espécie não se distinguem pelo colorido das membranas. Apresentam, porém, quasi sempre bordos nitidos, de quitina mais espêssa e, além disso, pêlos pequenos, pouco numerosos, presentes também nas "laminae adanales", e inteiramente ausentes nas zonas das membranas.

A primeira membrana intermediária forma um anel completo, estreito na área ventral e dorsal e mais longo nas regiões pleurais.

O esternito genital dos machos e das fêmeas apresenta bordos laterais ligeiramente curvos e bordo posterior arqueado. No meio do esclerito ha uma leve saliência longitudinal mediana. Os pêlos são mais densos perto do bordo posterior.

O esternito postgenital apresenta saliência longitudinal mais acentuada do que a do esternito genital.

O órgão copulador, sem pêlo algum, é de forma triangular com ligeiro apêndice saliente na ponta, apresentando uma orla ventral franjada, entre a qual se vê nitidamente a abertura genital masculina.

A abertura genital da fêmea é semi-lunar, igual em sua forma como nas espécies do gênero *Otostigmus*.

As lâminas adanais unem-se atrás numa ponta comum, sendo que a posterior estabelece contacto direto com os bordos laterais do tergito anal e a anterior forma a continuação das membranas que marcam o limite externo da abertura genital na fêmea, enquanto que no macho servem de esteio póstero-lateral ao órgão copulador.

O tergito anal apresenta igual constituição topográfica em ambos os sexos, tendo os bordos laterais ligeiramente divergentes e o bordo posterior redondo.

Nesta espécie não existe nenhum dimorfismo sexual que permita distinguir os machos das fêmeas sem a inpeção dos próprios órgãos sexuais externos, de maneira que os sexos só podem ser distinguidos pelo confronto dos últimos ou.

quando isto não é possível, por um corte, praticado em alguns tergitos, inspecionando-se os órgãos genitais internos (ovários ou testículos).

A ausência absoluta do dimorfismo sexual parece ser um caraterístico extensivo a todo o gênero *Rhysida*, pois não encontramos nenhum indício morfológico, além dos órgãos genitais externos, que distinga os machos das fêmeas, em nenhuma espécie do gênero. Referimo-nos aqui às seguintes espécies, das quais a coleção do Instituto Butantan dispõe de séries:

Rhysida celeris HUMB. & SAUSS., 1870
" *longipes* NEWPORT, 1845
" *brasiliensis* KRPLN., 1903
" *nuda* (NEWPORT), 1845.

Família: *Cryptopidae*

Já referimos a grande facilidade na distinção dos escleritos e das membranas da região gênito-anal em todos os gêneros pertencentes a esta família, em oposição à família *Scolopendridae*, onde esta facilidade não existe.

8. *Cryptops (Trigonocryptops) iheringi*

(Vide Foto No. 4)

MÉDIA DAS MEDIDAS DA SÉRIE

	Macho	Fêmea
Comprimento total	85 — 90 mm	87 — 91 mm
Largura do 12.° tergito	5,8 — 6,7 mm	5,4 — 6,3 mm
Comprimento do esternito genital	1,2 — 1,4 mm	1,1 — 1,3 mm
" " " postgenital	0,5 — 0,6 mm	
" " órgão copulador	0,9 — 1,1 mm	
" " tergito anal	1 — 1,3 mm	1,1 — 1,6 mm

Os escleritos dos machos e das fêmeas são, no tocante à região gênito-anal, muito pilosos e de colorido amarelo avermelhado, enquanto que as membranas se apresentam sem pêlos e de aspecto branco.

Na fêmea (Foto No. 4, à direita) a primeira membrana intermediária é invisível no lado ventral e mesmo lateral, sendo visível apenas no lado dorsal como uma faixa muito curta, côr de cinza.

O esternito genital (Foto No. 4,1), de aspecto amarelado e com pêlos longos e numerosos ao longo do bordo posterior e na zona mediana da última metade do

esclerito, apresenta bordos laterais fortemente divergentes. O bordo posterior é côncavo. Quanto à forma convem notar ser êle muito mais largo do que longo, havendo em sua área central uma ligeira depressão longitudinal mediana.

A abertura genital tem a forma de sempre, semi-circular, sendo atravessada parcialmente por pregas.

O segmento anal é maior do que o genital. Tanto o tergito anal como as "laminae adanales" apresentam numerosos pêlos, pequenos e longos. No tergito anal notamos um leve sulco longitudinal mediano, sendo seu bordo posterior bastante curvo e havendo no mediano uma curta saliência.

A "lamina adanalis inferior" é muito mais grossa do que a superior. Parte do lado externo, posterior, da abertura genital, dirige-se então para o centro, formando o limite do poro genital; dai emite uma apófise, que se dirige para trás, em linha reta, na área mediana, vindo a terminar na zona ventral, perto da cratera anal.

A "lamina adanalis superior" vem dos bordos laterais do tergito anal; dirige-se para trás, sofrendo ligeira declinação para o lado ventral, e termina nas proximidades da cratera anal, à mesma altura como a apófise da lâmina inferior, sem contudo unir-se diretamente com a última.

No macho o esternito genital tem maior tamanho do que na fêmea, sendo os bordos laterais paralelos, não divergentes. O bordo posterior é reto. O número de pêlos longos é muito mais elevado do que na fêmea, encobrindo uniformemente toda a área do esternito, enquanto que na fêmea estão aglomerados apenas numa determinada zona posterior do esclerito.

O esternito postgenital (Foto No. 4,2) é igualmente coberto de numerosos pêlos, mais longos na área mediana posterior. O bordo posterior termina numa pequena ponta (visível no Foto).

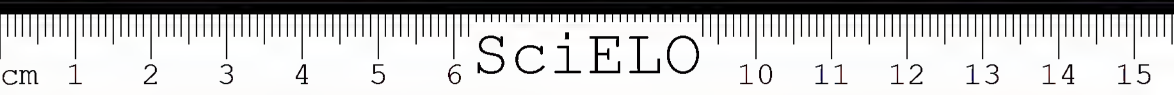
O órgão copulador apresenta poucos pêlos curtos nas duas placas laterais, unidas dorsalmente por uma membrana elástica, branca e sem pêlos. A ponta terminal do órgão é saliente. No lado ventral as duas placas se desfazem num bordo externo continuo e num interno, mais saliente, franjado, sendo que a última contem a abertura genital, estreita e longa.

O tergito anal, levemente sulcado na área mediana longitudinal, apresenta pêlos somente ao longo do bordo posterior.

As lâminas adanais são pilosas como na fêmea e apresentam o mesmo percurso como nesta, sendo apenas de menor tamanho.

Pelo órgão copulador (Foto No. 4.3) podem-se facilmente distinguir os machos das fêmeas, sendo de notar que êste órgão também já está presente e bem desenvolvido nos machos adolescentes.

No intuito de descobrir caracteres sexuais secundários que permitam distinguir os sexos independentemente da consideração dos próprios órgãos sexuais.



realizamos as seguintes medições em séries de machos e fêmeas: (6 machos e 6 fêmeas).

	Machos	Fêmeas
Comprimento total	85 — 90 mm	87 — 91 mm
Largura do 2.° tergito	5 — 5,2 mm	4 — 4,2 mm
" " 14.° "	7 — 7,2 mm	5 — 5,2 mm
" " 20.° "	4 — 4,1 mm	3 — 3,7 mm
10.° tergito	5 mm de compr. e 7 mm de largura	comprim. e largura 5: 5
Comprimento dos 5 articulos das últimas patas	5+4,5+3,2+2+3,5; total: 18,2 mm	4+4+2+1,8+3; total: 14,8 mm
Espinhos enfileirados na tibia e no tarso	22—24 + 6	13—17 + 4—5
Dentes no fêmur e na tibia	1+1 pequenos (ausentes)	1+1 grandes (sempre)

Quanto aos espinhos enfileirados na tíbia deve-se salientar que são do mesmo tamanho tanto nos machos como nas fêmeas. Nos machos, porém, ha na média 8-9 espinhos mais do que nas fêmeas. Nas fêmeas êstes espinhos são separados; na maioria dos machos, porém, os 2-3 espinhos terminais, maiores, aparecem mais ou menos unidos.

No último tergito das fêmeas ha em média 18-24 espinhos, enquanto que nos machos seu número é apenas de 8-14.

A área do último esternito do tronco apresenta nas fêmeas 50-55 espinhos e nos machos apenas 28-37 menores.

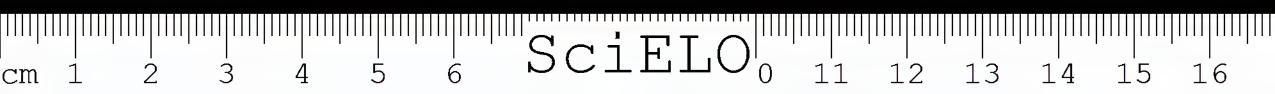
Pelo conjunto do confronto de todos êstes caraterísticos podemos concluir:

1.° Que as fêmeas são mais longas do que os machos e mais delgadas;

2.° Que o comprimento das últimas patas tomado em relação ao comprimento do tronco revela que estas são muito mais longas nos machos do que nas fêmeas;

3.° Os machos têm maior número de espinhos enfileirados na tíbia (sendo geralmente os últimos 2-3 unidos) e no tarso do que as fêmeas; estas, ao contrário, têm maior número de espinhos no último tergito e esternito do tronco.

Além de todos êstes caracteres morfológicos, que certamente podem ser classificados como sendo próprios aos dois sexos, ainda que sua verificação não seja tão fácil, principalmente quando não se dispõe de uma grande série, existe ainda um outro caraterístico muito importante e nunca falho para distinguir os dois sexos,



residindo na pilosidade maior dos 3 últimos segmentos, principalmente da tibia e dos tarsos do último par de patas das fêmeas, enquanto que nos machos esta pilosidade é mínima ou quasi nula nos citados artículos.

Quanto ao *Cryptops* (*Trigonocryptops*) *triangulifer* Verhoeff, 1937 (Zool. Jahrb. Syst. **70** (1/2):9-11), cabe nos referir aqui mais um argumento que prova a sinonímia desta espécie com a antiga: *Cr.* (*Tr.*) *iheringi*, deficientemente descrita por H. W. Brölemann, em 1902. Já em nosso trabalho "Os Quilópodos do Brasil". Mem. Inst. Butantan **13**:284-287.1939, provamos suficientemente a nulidade da espécie de Verhoeff e a caraterização morfológica insuficiente da espécie antiga de Brölemann (Rev. Mus. Paul. **5**:42.1902), procedendo por esta ocasião à redescrição de *Cryptops iheringi*. Em nosso "Catálogo dos Quilópodos da zona neotrópica". Mem. Inst. Butantan **15**:323-324. 1941, a espécie de Verhoeff já é considerada como sinônima da de Brölemann.

O estudo comparado dos órgãos sexuais externos e principalmente dos caraterísticos sexuais secundários ratifica o que estabelecemos em 1939 e 1941.

Verhoeff diz entre outras coisas que a espécie *triangulifer* se distingue de *iheringi*:

1.° Pela presença de um dente na margem terminal do fêmur e da tibia, ausentes em *iheringi*;

2.° Pela separação nítida dos 15 dentes enfileirados da tibia, enquanto que em *iheringi* são mais ou menos unidos;

3.° As últimas patas de *triangulifer*, principalmente prefêmur e fêmur, apresentam muitos pêlos longos e muitos acúleos; a tibia só apresenta pêlos, o primeiro tarso apenas poucos pêlos e o segundo tarso novamente pêlos longos e numerosos.

Ora, Verhoeff não sabia que todos êstes caraterísticos, principalmente o grande número de pêlos nas últimas patas, constituem justamente o que chamamos de dimorfismo sexual, sendo próprios das fêmeas de *iheringi*, como acabamos de assinalar acima. Os dentes enfileirados, mas sempre separados, são igualmente típicos nas fêmeas de *iheringi*, valendo o mesmo também da presença de dentes no fêmur e na tibia.

Verhoeff, dispondo apenas de um único exemplar (fêmea "adolescens"), não pôde, naturalmente, tomar em consideração o dimorfismo dos sexos e assim descreveu como espécie nova a fêmea de *Cryptops* (*Tr.*) *iheringi*, descrito por Brölemann de um exemplar macho.

9. *Scolopocryptops miersii puruensis*

	Macho
Comprimento total	84 — 86 mm
Largura do 12.° tergito	7,3 — 7,5 mm
Comprimento do esternito genital	1,2 — 1,5 mm
" " " postgenital	0,5 — 0,7 mm
" " órgão copulador	1 — 1,2 mm
" " tergito anal	1,2 — 1,6 mm

A primeira membrana intermediária é estreita na zona ventral, atingindo maior desenvolvimento nas pleuras e encurtando-se novamente na área do tergito anal.

O esternito postgenital apresenta igualmente uma fossa mediana, porém menos profunda, e pêlos longos, mais numerosos ao longo do bordo posterior.

O órgão copulador é triangular, sem pêlos nas duas orlas franjadas, ao longo da abertura genital, nem nas placas laterais.

O tergito anal apresenta um ligeiro sulco mediano, sendo coberto por pêlos curtos.

As "laminae adanales", também cobertas por pêlos curtos, convergem atrás, sem se unirem. A lâmina dorsal vem diretamente dos bordos laterais do tergito anal, enquanto que a ventral surge no meio de membranas. Atrás ambas as lâminas se perdem entre as membranas, muito espessadas, que formam a cratera anal. A última é redonda, havendo no lado ventral uma curta fenda que se estende até as imediações da base do órgão copulador.

Infelizmente não possuimos por ora fêmea alguma desta espécie, de maneira que não podemos proceder a um estudo comparado dos sexos, nem às verificações de dimorfismo sexual.

10. *Otocryptops ferrugineus ferrugineus*

(Vide Foto No. 5)

MÉDIA DAS MEDIDAS DA SÉRIE

	Macho	Fêmea
Comprimento total	46 — 52 mm	48 — 53 mm
Largura do 12.° tergito	5,3 — 5,5 mm	5,3 — 5,5 mm
Comprimento do esternito genital	1,1 — 1,3 mm	1 — 1,2 mm
" " " postgenital	0,2 — 0,4 mm	
" " órgão copulador	0,6 — 0,8 mm	
" " tergito anal	1,1 — 1,3 mm	1,1 — 1,2 mm

Na fêmea observa-se pouca diferença morfológica na região gênito-anal com a fêmea de *Cryptops iheringi*. Todos os escleritos apresentam numerosos pêlos, distribuidos a esmo nas lâminas adanais (Foto No. 5,5), aglomerados em maior número nos bordos posteriores e na área posterior mediana do esternito genital e do tergito anal.

O esternito genital (Foto No. 5,1) apresenta ligeira elevação longitudinal mediana. A abertura genital (Foto No. 5, a) é típicamente semi-lunar. O tergito anal tem um sulco longitudinal nítido.

Quanto à morfologia da região gênito-anal do macho, nada se pode acrescentar à descrição da mesma no macho de *iheringi*. Todos os escleritos são cobertos por pêlos, enquanto que as membranas apresentam pêlo nenhum.

Nesta espécie não conseguimos observar caracteres sexuais secundários, de maneira que não se podem reconhecer os sexos sem a inspeção dos próprios órgãos sexuais.

CONCLUSÃO

1.° Pelo estudo dos órgãos sexuais externos é sempre fácil distinguir os sexos em todos os indivíduos da ordem dos *Scolopendromorpha*, havendo nos machos sempre um esternito postgenital e um órgão copulador, nitidamente visíveis, enquanto que nas fêmeas êstes são inteiramente ausentes.

2.° A abertura genital é colocada nas fêmeas no segmento genital e apresenta a forma de um semicírculo, enquanto que nos machos ela termina no segmento postgenital, apresentando a forma de uma fenda longa e estreita.

3.° Em todos os indivíduos da família *Scolopendridae* (gêneros: *Scolopendra*, *Otostigmus* e *Rhysida*) não é fácil distinguir à primeira vista os escleritos das membranas, porque apresentam o mesmo colorido, sendo os pêlos dos primeiros de proporções muito pequenas e de número pouco elevado, enquanto que nos indivíduos da família *Cryptopidae* (gêneros: *Cryptops*, *Scolopocryptops* e *Otocryptops*) os escleritos se distinguem facilmente das membranas brancas pelo grande número de pêlos amarelados ou avermelhados.

4.° Havendo órgãos sexuais secundários, êles constituem um caraterístico seguro para distinguir os machos das fêmeas, sem ser necessário recorrer aos órgãos sexuais propriamente ditos. Isto vale não somente no tocante aos indivíduos adultos, mas também para as formas juvenis e imaturas.

5.° Caracteres sexuais secundários existem nas seguintes espécies:

Scolopendra morsitans L., 1758
Otostigmus (*C.*) *cavalcantii* Bücherl, 1939
Otostigmus (*D.*) *caudatus* Brölemann, 1902
Otostigmus (*A.*) *scabricauda* (Humb. & Sauss.). 1870
Otostigmus (*A.*) *scabricauda demelloi* (Verh.), 1937
Otostigmus (*P.*) *pradoi* Bücherl, 1939
Otostigmus (*P.*) *tibialis* Bröl., 1902
Cryptops (*Tr.*) *iheringi* Bröl., 1902

Não existem nos gêneros: *Rhysida*, *Scolopocryptops* (provavelmente) e *Otocryptops*.

6.º Os caracteres sexuais secundários sempre existem apenas nos machos, nunca nas fêmeas.

7.º *Otostigmus demelloi* Verh. é de fato apenas uma subespécie de *O. scabricauda*. *Otostigmus rex* Chamb. é uma espécie nula, porque foi descrita à mão de uma fêmea de *scabricauda*. *Cryptops triangulifer* Verh. é pela mesma razão considerada uma espécie nula.

BIBLIOGRAFIA

Büchert, W. — Dois novos Quilópodos do subgênero *Parotostigmus* da coleção do Instituto Butantan — Bol. Biol. **4**(3).1939.

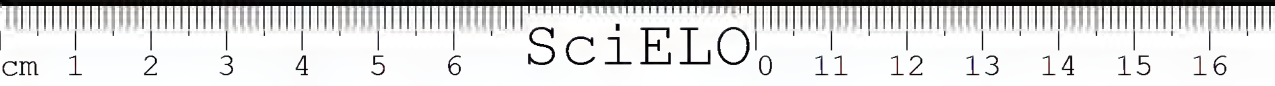
Idem — Três Escolopendrídeos novos — Rev. Biol. Hyg. **10**(1).1939.

Idem — Os Quilópodos do Brasil — Mem. Inst. Butantan **13**.1939.

Idem — Catálogo dos Quilópodos da Zona Neotrópica — *Ibidem* **15**.1941.

Verhoeff, C. — Über einige Chilopoden aus Australien und Brasilien — Zool. Jahr. Syst. **70**(1/2).1937.

(Trabalho da Seção de Zoologia Médica. Entregue para publicação em 27 de maio de 1942 e dado à publicidade em fevereiro de 1943).



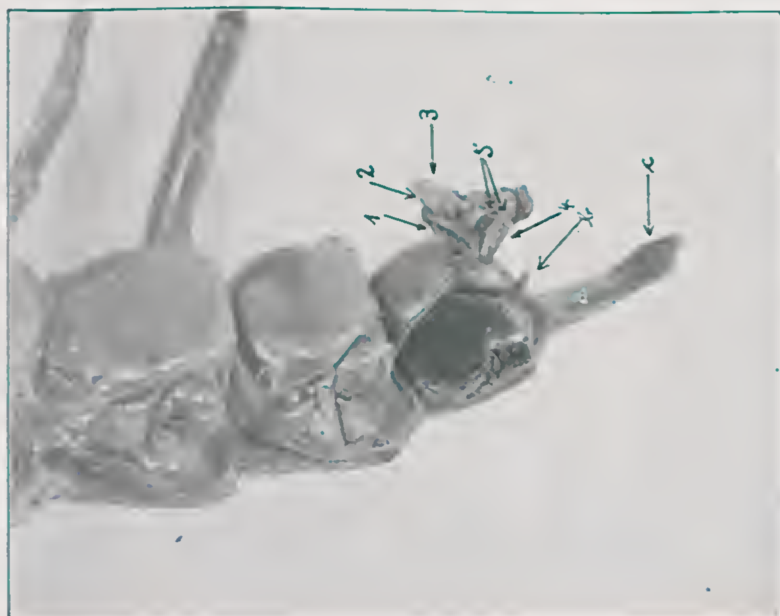


FOTO No. 2

Otostigmus cavalcantii B., macho

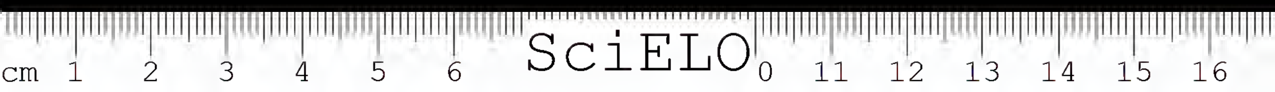
1 — Esternito genital; 2 — esternito postgenital; 3 — órgão copulador; 4 — tergito anal; 5 — "laminae adanales"; b — apêndice coxopleural; c — apêndice digitiforme.



FOTO No. 1

Otostigmus cavalcantii B., femea

1 — esternito genital; a — abertura genital; 4 — tergito anal; 5 — "laminae adanales".


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
0 11 12 13 14 15 16

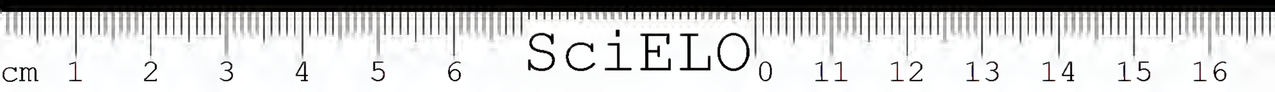
Mem. Inst. Butantan
Vol. XVI — 1942



FOTO N. 5

Otocryptops ferrugineus ferrugineus (L.) macho e fêmea.

1 — Esternito genital; 3 — orgão copulador; 4 — tergito anal; 5 — "laminae adanales"; a — abertura genital da fêmea.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 0 11 12 13 14 15 16

591.156:595.62

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DOS ÓRGÃOS SEXUAIS EXTERNOS DAS ESPÉCIES DO GÊNERO *SCOLOPENDRA* LINNÉ MAIS FREQUENTES NO BRASIL

Um novo método morfo-comparado para a sua sistematização

POR

WOLFGANG BÜCHERL

ESBOÇO HISTÓRICO

A classificação genérica e principalmente específica de muitos grupos dos *Scolopendromorpha* ainda é parcialmente obscura, sendo os caraterísticos morfológicos, por ora considerados, muito susceptíveis de variação e em grande parte francamente insuficientes.

Cientes dêstes graves inconvenientes os especialistas modernos abandonaram quasi por completo os métodos antigos de classificação, baseados geralmente apenas num ou dois caraterísticos morfológicos, o colorido, o comprimento total, o número de espinhos ou pêlos, etc., que posteriormente foram verificados falhos. A sistemática moderna, ao contrário, procura contornar êste mal, procedendo à sistematização das espécies pelo conjunto de todos os caracteres morfológicos importantes.

Isto já significa um bom passo adiante, ainda que não se tenha conseguido vencer totalmente as deficiências, como aliás é natural, porque o julgamento sôbre o conjunto de caracteres mesmo assim continúa ainda individual e subjetivo, a mercê do critério de cada especialista. Daí os litígios, às vêzes veementes entre os autores mais conhecidos: Attems, Verhoeff, Chamberlin, Silvestri e Brölemann, acêrca da validade de gêneros e espécies novas.

Admira, porém, que êstes mesmos especialistas tenham olvidado por completo o estudo dos órgãos sexuais externos, pois êstes órgãos constituem, como vamos demonstrar, um dos melhores caraterísticos para distinguir seguramente

as espécies, os machos e fêmeas de uma espécie e ainda as formas juvenis das adultas.

Ainda mais nos admira si um autor, como Attems, julga poder excluir de antemão os órgãos sexuais externos dos *Scolopendromorpha* como caracteres importantes para a sistemática. Êle escreve textualmente em seu trabalho sistemático sôbre os Escolopendromorfos (Tierreich **54** *Scolopendromorpha*, página 15): "Os segmentos genitais são *extremamente pequenos e destituidos de qualquer importância sistemática*".

Estas palavras só puderam ser escritas por quem nunca realizou um estudo comparado dos órgãos sexuais das espécies do gênero *Scolopendra*. Um simples olhar sôbre as fotografias dos órgãos genitais de algumas espécies neotrópicas dêste mesmo gênero basta para qualificar de absurda a afirmação de Attems (vide as fotografias).

O estudo dos órgãos sexuais externos foi tão negligenciado entre os autores, que até o dia de hoje não se publicou trabalho algum sôbre o assunto.

W. Brölemann, em "Myriapodes du Musée de São Paulo" (Revista Museu Paulista **5**:35-44.1902 e **6**:63-71.1904) descreveu nada menos de seis espécies novas de Escolopendromorfos sem fazer siquer menção dos seus órgãos sexuais.

Na mesma falta incidiu R. Chamberlin em sua descrição das treze espécies novas, colhidas na América do Sul pela expedição de Stanford, em 1911 (Bull. Mus. Harvard **58**:151-195.1914).

O ponto de vista de Attems (Tierreich **54**:1-308.1930) já foi referido. Êste autor, porém, contúa a ignorar a importância dos estudos comparados dos órgãos sexuais externos mesmo ainda em tempos recentes, apesar das críticas que seu sistema tem sofrido.

Verhoeff, em Bronn's Klassen und Ordnungen **63-101**.1902-1925, é o primeiro a fazer pelo menos algumas considerações gerais sôbre os órgãos sexuais dos *Scolopendromorpha*, considerações estas ainda de ordem puramente morfológica, feitas esporadicamente nas seguintes páginas: 25-27, 75, 87, 105-107 e 523-528. Atribue já ao estudo dos órgãos sexuais sua devida importância, escrevendo à página 177: "Estudos topográficos e comparados, minuciosos e exatos, sôbre os órgãos sexuais externos dos segmentos genitais seriam sumamente desejáveis e constituiriam provavelmente uma ótima base para a caraterização da evolução epimorfa dos Escolopendromorfos".

A exigência de Verhoeff em serem considerados na sistemática os órgãos sexuais se tornou ainda mais explicita nestes últimos anos. Vale a pena reproduzir um curto trecho do seu trabalho "Über europaeische *Crytops*-Arten" (Zool. Jahrb. Syst. **62**.1931), porque permite entrever claramente a fraqueza da sistemática quilopódica moderna, feita sem o estudo comparado dos órgãos genitais externos:

"Foram publicados ultimamente dois trabalhos dos meus colegas Attems (Tierreich **54**. 1930) e Brölemann — "Elements d'une Faune des Myriapodes de France, Chilopodes".

Brölemann estudou as espécies do gênero *Cryptops*, colhidas na França e na Algéria e Attems reuniu numa chave sistemática todas as espécies do mundo inteiro dêste mesmo gênero.

O trabalho de Attems é, sem dúvida, muito meritório. Demonstra, porém, claramente, quão necessária é uma reforma deste gênero.

E' singular, antes de tudo, que ambos os autores ainda não saibam distinguir claramente os sexos, o que é provado pelo fato que a subespécie nova de Brölemann *Cryptops savignyi hirtitarsis* é simplesmente a fêmea de *Cryptops savignyi* ("genuinus"), espécie esta descrita apenas segundo um exemplar macho.

Já Latzel escreveu em 1880 (Chil. österr.-ungar. Monarchie, página 156): "E' muito difícil distinguir os machos e as fêmeas, porque em nenhum dos sexos existem apêndices genitais. Baseado em estudos comparados dos órgãos genitais internos, considero por enquanto como fêmeas aqueles indivíduos, cujo tronco é mais largo em frente e que têm maior número de poros pleurais; machos são aqueles que são bastante estreitos na parte anterior do tronco, que têm apenas um número regular de poros pleurais e cujo penúltimo par de patas é mais longo e mais grosso do que o anterior."

Brölemann, ao contrário, nada nos revela sôbre os sexos e Attems explica: "As patas posteriores, principalmente o 20.º par, apresentam muitas vêzes uma aglomeração densa de pêlos (caracteres sexuais masculinos?)."

Está demonstrado, portanto, que persiste ainda grande incerteza na distinção dos sexos. Eu mesmo identifiquei o sexo de uma série de indivíduos pela autópsia. Pude determinar facilmente os machos pela presença dos grandes espermatóforos. Surpreendi, por outro lado, certos indivíduos (do mesmo gênero) que faziam guarda à sua cria, de maneira que destes suponho serem fêmeas. Os meus estudos me fizeram abraçar parcialmente a opinião de Attems, porque cheguei à conclusão de que o último par de patas dos machos apresenta de fato geralmente um número maior de pêlos. No 20.º par de patas, porém, não há caracteres seguros para distinguir os sexos. Mas também a presença de um número maior de pêlos no último par não é um caráter absolutamente válido, porque varia nas espécies e subespécies. Uma diferença sexual, baseada no número dos poros pleurais, segundo Latzel, não pude confirmar.

Êste esbôço histórico mostra-nos que cabe a Verhoeff o mérito de ter chamado a atenção dos especialistas sôbre a grande importância dos caracteres sexuais na descrição de novas espécies e novos gêneros. Mas êste mesmo Verhoeff procurou os caracteres fóra da esfera dos próprios órgãos genitais

externos e assim chegou forçosamente à conclusão pouco satisfatória de que, para se ter certeza que o indivíduo em estudo é macho ou fêmea, é preciso proceder à autópsia e inspecionar os órgãos genitais internos. Muitos especialistas desistem deste processo, pois o próprio Verhoeff confessa "que o precioso material precisa ser tratado com cuidado, omitindo-se praticar cortes ou cissuras que destruam o tipo."

O presente trabalho apresenta um novo caraterístico morfológico seguro para distinguir os machos e as fêmeas de uma e mesma espécie e ainda para estabelecer novas espécies. Êste caraterístico é constituido justamente pelos próprios órgãos sexuais externos, como veremos:

MATERIAL E MÉTODO

O material empregado para o presente estudo dos órgãos sexuais externos consta de exemplares em grande parte vivos. Por ora realizamos apenas pesquisas comparadas sôbre as espécies e subespécies mais frequentes no Brasil e reunidas no gênero *Scolopendra*. Porém já temos em preparação um grande número de outros grupos quilopódicos, cujos órgãos sexuais serão estudados em outro trabalho. Esperamos desta maneira poder contribuir eficientemente para o lançamento de uma nova base para a sistemática dos Quilópodos.

O material vivo é constituido pelas seguintes espécies e subespécies:

Scolopendra viridicornis Newport
" " *viridicornis* Bücherl
" " *nigra* Bücherl
" *subspinipes* Leach
" " *subspinipes* Leach
" *morsitans* Linné
" *angulata* Newport
" " *angulata*, n. subsp.

Além do estudo destas espécies e subespécies vivas fizemos numerosos preparados parciais do aparelho genital, entre lâmina e lamínula, e conservamos ainda, em alcool a 70%, grande número de Escolopendras com os órgãos sexuais visíveis. Foram executados igualmente cortes longitudinais e transversais dos segmentos genitais de machos e fêmeas das espécies acima enumeradas.

Empregamos no exame do aparelho genital externo o seguinte método:

Narcotizamos os exemplares vivos e injetamos, em seguida, por via intestinal uma solução alcoólica de formol até que os órgãos genitais, naturalmente

invisíveis e recolhidos no interior do último segmento de patas, se tornassem visíveis externamente e aptos para um exame topográfico e comparado.

Quando êste método não era viável (como acontece nos indivíduos que já foram conservados por muitos anos em meio líquido) e mesmo para obter maior certeza nas pesquisas comparadas, abriamos longitudinalmente os últimos tergito e esternito na linha lateral, com fina tesoura, e separavamos a última porção do intestino posterior e a parte baixa dos órgãos genitais internos dos animais mortos, retirando de uma só vez os segmentos anal, postgenital e genital, conjuntamente com as formações intermediárias dos "pseudosegmentos". Procediamos, em seguida, à separação da musculatura e das traquéias sob o binocular e em solução fisiológica (quando se tratava de animais ainda não fixados). Isoladas as zonas genitais, submergiamos os preparados em carmim acético (Semichon), passando, em seguida, pelo ácido acético e depois pelo creosoto.

Para a montagem dos órgãos genitais deshidratavamos o material, após prévio afastamento sob o binocular dos feixes musculares e das traquéias, pela série comum de alcoois, permanecendo 3-4 dias em alcool absoluto, renovado 3-4 vêzes e clarificavamos as peças em xilol-fenicado.

Para cortes a micrótomo, as referidas peças foram fixadas em formol, sendo a quitina amolecida pelo diafanol ou pela solução alcoólica de ácido nítrico.

ESTUDO TOPOGRÁFICO E COMPARADO

Os segmentos genitais e o anal tanto dos machos como das fêmeas dos *Scolopendromorpha* estão profundamente recolhidos numa cavidade central do último segmento de patas, de maneira que nos exemplares vivos quasi nunca podem ser vistos. Foi êste o motivo que induziu certamente Attems a escrever que os órgãos genitais externos não têm importância alguma na sistemática. Outros caracteres sexuais morfológicos, fóra do âmbito da zona genital, que permitissem distinguir os machos e as fêmeas, não foram descobertos em nenhuma das espécies referidas, exceção feita da *Scolopendra morsitans*, como veremos adiante. Em regra geral as fêmeas são um tanto maiores e mais robustas do que os machos.

Na linha mediana posterior, entre as últimas patas, observa-se uma fenda vertical, a começar do tergito e a estender-se até ao esternito. Esta fenda é formada por um bordo espesso de uma membrana e contêm, em seu interior, os últimos três segmentos: o genital, o postgenital e o anal.

Esta fenda é comumente um pouco distendida no meio, de maneira que é possível ver alguns detalhes da zona genital e anal. A membrana que forma a

fenda faz parte de um pseudosegmento, vindo a ser a primeira membrana intermediária (Vide Foto 3, No. 2) entre o 21.º segmento (último segmento de patas) e o 22.º segmento (segmento genital).

Um treino suficientemente longo permite já distinguir os sexos pelos simples detalhes, entrevistos pela fenda aberta. Antes, porém, queremos dar uma noção topográfica geral dos referidos segmentos e aconselhamos, para a bôa compreensão, conferir as 4 primeiras fotografias deste trabalho:

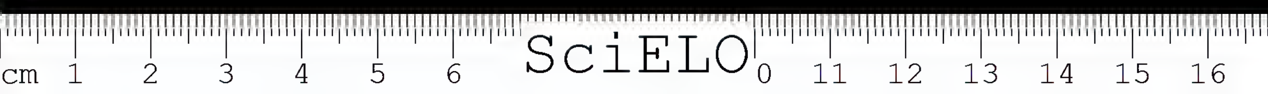
A última zona do corpo dos Quilópodos consta dos segmentos genital, postgenital e anal, com formação morfológica incompleta e de interpretação difícil, e ainda de dois pseudosegmentos ou duas membranas intermediárias, sendo a primeira localizada entre o 21.º esternito e o esternito genital e a segunda entre o esternito genital e postgenital (Vide Fotos 3 e 4, Nos. 2 e 5). A primeira membrana intermediária nos machos é muito longa no lado ventral e ventro-lateral. Estreita-se em seguida e abraça o lado dorso-basal do tergito anal (Foto 4, No. 2). A zona ventral mediana desta mesma membrana forma dois bordos longitudinais salientes que protegem a zona basal do esternito genital. Nas fêmeas esta membrana intermediária é de igual formação como nos machos, com a diferença de ser um pouco mais curta na zona ventral mediana (vide Foto 2).

O segmento genital consta apenas do esternito genital (Vide Fotos 2, No. 1 e Fotos 3 e 4, No. 3), constituido por uma placa fracamente quitinizada. E' igual em machos e fêmeas tanto na forma como no tamanho. Nos machos apenas é bruscamente dobrada na linha mediana ventral (Vide Foto 4), enquanto que nas fêmeas é ligeiramente curva (Vide Foto 1). Na zona basal da linha mediana observa-se uma curta fossa profunda (Vide Foto 3, No. 3). Os bordos posterior e laterais do esternito são curvos e de quitina mais espessa. Nas fêmeas observamos atrás deste esternito a grande abertura genital que dá acesso ao "atrium genitale" bastante volumoso.

Até aqui as formações morfológicas foram mais ou menos iguais nos machos e fêmeas; de agora em diante, porém, observa-se uma diferença completa.

A segunda membrana intermediária só existe nos machos (Vide Foto 4, No. 5), envolvendo o segmento postgenital lateral- e dorsalmente e separando-o do segmento anal. Esta membrana é extremamente delicada e flexível, de maneira que se adapta perfeitamente ao volume do segmento postgenital, cujas partes basais protege contra a pressão excessiva.

O segmento postgenital é igualmente presente apenas nos machos. Consta dum esternito e do órgão copulador. O esternito (Vide Fotos 3 e 4, No. 6) é formado por duas placas ventro-laterais, quitinosas, unidas no meio apenas por uma dobra delicada e transparente, que cobre um sulco longitudinal profundo. Os bordos destas placas são nítidos e arredondados, sendo sua parte basal protegida, como já dissemos, pela membrana intermediária. O papel do esternito postgenital consiste em dar ao órgão copulador a necessária firmeza.



O órgão copulador ou "penis" consta de duas placas laterais, aproximadamente triangulares, com face ventral reta e linha dorsal ligeiramente curva (Vide Fotos 3 e 4, No. 7). No lado ventral ha duas orlas, uma saliente e quitinizada e a outra franjada. Entre a última abre-se a fenda genital masculina (Vide Foto 3) que é estreita e longa, enquanto que a abertura genital da fêmea é, como vimos, larga e redonda. Posteriormente o órgão copulador se estreita. Sua face dorsal é geralmente larga, principalmente atrás e completamente destituida de quitina, de maneira que apresenta máxima elasticidade.

O segmento anal é outra vez presente em ambos os sexos, consistindo sempre das mesmas peças, a saber: do tergito ou "lamina dorsalis", de duas peças laterais pequenas ou "laminae adanales" e de uma peça ventral, mediana, chamada "lamina subanalis." Nos machos o segmento anal é muito reduzido, não chegando a corresponder à metade do comprimento dos segmentos genitais, enquanto que nas fêmeas se dá justamente o contrário, excedendo aqui o segmento anal o genital pelo seu maior desenvolvimento. Esta diferença em tamanho é tão pronunciada e tão tipica nas espécies neotrópicas do gênero *Scolopendra*, que bastaria por si só para distinguir seguramente os sexos.

O tergito anal é aproximadamente de igual tamanho em ambos os sexos e apresenta quitina espessa. As lâminas adanais e a subanal, porém, são muito reduzidas nos machos, enquanto que nas fêmeas formam peças muito nitidas, unidas entre si por dobras elásticas.

A "lamina subanalis" forma, por assim dizer, o fêcho ventral do anus e as "laminae adanales", que ocorrem em um par de cada lado, são dobras laterais, móveis, unidas de um lado com a lâmina subanal e do outro com a região anal propriamente dita.

Esta apresenta forma de cratera, tendo no centro, em nivel aprofundado, a abertura anal. A parede interna da cratera anal é formada por uma dobra elástica, dividida por sulcos, que divergem do centro para a periferia (Vide Fotos 1 e 2, Nos. 2, 3, 4).

Êste ligeiro esboço topográfico já é suficiente para mostrar que ha de fato diferenças morfológicas profundas nestes últimos segmentos, diferenças estas que permitem facilmente distinguir os machos das fêmeas. Outros detalhes nestes órgãos, tipicos para cada espécie, vão ser referidos mais adiante.

Os segmentos genitais e o anal dos Quilópodos são extremamente móveis: podem ser protraidos ou retraídos segundo estiverem sujeitos ou não à pressão sanguínea. Quando retraídos mudam completamente de volume, tornando-se 3-4 vêzes menores do que em estado protraido. Cabem assim perfeitamente dentro de uma pequena cavidade do corpo, que se encontra no último segmento do tronco. O mecanismo de retração é semelhante ao do fechamento de um telescópio: o órgão copulador entra nas duas placas do esternito postgenital; estas

afastam-se um tanto em direção ao anus e entram na cavidade interna do esternito genital. Em seguida são retraídas as partes do anus, a saber: as lâminas adanais e a subanal, que se aplicam então externamente ao esternito postgenital. Desta maneira acontece que, em estado de retração, nada mais é visto dos segmentos genitais e anal a não ser alguns restos da parte terminal do tergito anal, das lâminas "adanales", da lâmina "subanalis" e do esternito genital. Nos machos o segmento postgenital desaparece por completo. O esternito genital de um lado e o tergito anal do outro formam, por assim dizer, duas tampas a isolar completamente os órgãos sexuais do mundo exterior.

Muitas vêzes estas zonas se encontram tão retraídas por entre a fenda vertical, formada pela primeira membrana intermediária, acima referida, que não se consegue ver cousa alguma dos órgãos genitais externos. Na maioria dos casos, porém, isto não se verifica, de maneira que sempre se vêm o tergito anal, o esternito genital e as lâminas sub- e adanais, pelo menos em seus detalhes posteriores.

Êstes mesmos detalhes são suficientes para, com algum treino, distinguir os sexos. Pode-se facilitar um pouco esta tarefa, distendendo com a pinça as zonas laterais da fenda. As diferenças entre machos e fêmeas são as seguintes:

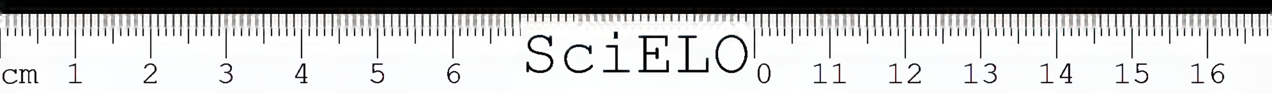
Nas fêmeas a "lamina subanalis" (falamos sempre apenas das partes posteriores, visíveis mesmo em estado de retração), diretamente encostada ao esternito genital, é do mesmo comprimento que êste. Em seguida observam-se em cada lado duas peças muito menores, sendo principalmente a última bem desenvolvida e maior do que a anterior (são as "laminae adanales") e, por último, vem o tergito anal.

Nos machos, ao contrário, a "lamina subanalis" é muito menos comprida do que o esternito genital e as lâminas adanais não são tão bem visíveis e postas uma atrás da outra como nas fêmeas. Além disso a posterior é menor do que a anterior.

Como já assinalamos, é necessário um certo treino para saber distinguir por esta maneira os sexos, mas uma vez obtido êste treino, a distinção é segura, pelo menos no gênero *Scolopendra*. Há ainda um fator que facilita grandemente a distinção. E' que na maioria das espécies masculinas deste gênero existem nos bordos laterais do esternito genital apêndices uniarticulados, os chamados "styli genitales" e êstes são igualmente visíveis, estando localizados por cima das "laminae sub- e adanales".

Os órgãos sexuais do grupo: *S. viridicornis* Newp.

Estudamos neste grupo a espécie *viridicornis* e as duas subespécies *viridicornis* e *viridicornis nigra*, sendo de notar que em nenhuma das duas espécies encontramos diferenças morfológicas nos órgãos sexuais externos, tanto nos machos como nas fêmeas, que permitissem uma distinção nitida das subespécies.



Para o estudo comparado dos órgãos sexuais das fêmeas da espécie *S. viridicornis* Newp. serviram-nos treze exemplares vivos e muitos outros, conservados em alcool. A região genital e anal destas fêmeas apresenta, quando completamente estendida, maior comprimento do que o 21º esternito. A região anal é, como já assinalamos, bem desenvolvida e estende-se por trás do segmento genital (Vide Foto 2).

O último segmento do tronco ou 21º segmento já foi descrito por outros autores e por nós num outro trabalho, de maneira que nos consideramos dispensados de repetir aqui mais uma vez a descrição. Queríamos mencionar apenas que êste segmento, além do seu papel na defesa do animal, executada com as patas robustas e muito armadas, tem também grande importância na procriação, principalmente as partes coxopleurais. As coxopleuras executam um movimento de fóra para dentro e exercem desta maneira uma pressão externa sôbre a cavidade que contem os órgãos genitais, determinando a protração dos últimos. As apófises (apêndices coxopleurais) podem formar uma pinça que contribue, juntamente com as últimas patas, para segurar os machos no ato da cópula.

Quanto às glândulas coxopleurais pudemos verificar repetidas vêzes em animais vivos que a zona anterior do campo poroso está destituida quasi de função, enquanto que esta é muito ativa mais atrás, onde é eliminado um excreto esbranquiçado.

A primeira membrana intermediária das fêmeas de *S. viridicornis* está em contacto imediato com o esternito e o tergito do 21º segmento do tronco. No estado normal, portanto, quando os órgãos genitais se encontram recolhidos no interior do tronco, esta membrana forma, como já dissemos, uma figura oval a incluir o aparelho gênito-anal, deixando aparecer o último apenas através de uma fenda central, estreita, que corre do tergito em direção ao esternito.

Esta membrana é desfeita em dobras muito elásticas. Quando, pela pressão sanguinea, os órgãos sexuais são protraidos, ela acompanha a protração e então rodeia num circulo todo o aparelho genital (Vide Foto 2). No lado ventral e dorsal a membrana é mais curta, enquanto que nas zonas laterais ela se torna mais longa, formando duas curvas que encobrem externamente as partes basais do esternito genital, das lâminas adanais e do tergito anal.

O segmento genital das fêmeas consta apenas de um esternito dividido no meio por uma ligeira fossa longitudinal e circundado nos lados por dobras. O esternito é fracamente quitinizado e não apresenta apêndice nenhum, como aliás acontece em todas as fêmeas deste gênero. A sutura mediana é acompanhada por dois bordos de quitina mais espêssa.

O esternito genital abraça a grande abertura genital, rodeada inteiramente por dobras elásticas que se estendem ou recolhem conforme maior ou menor pressão sanguinea. No interior desta abertura observamos o "atrium genitale", de forma

semi-lunar. Êste "atrium" não acompanha de maneira alguma a forma do órgão copulador do macho, como seria de esperar, mas é, ao contrário, perfeitamente adaptado à forma dos espermatóforos do macho, descritos já por nós num outro trabalho.

Considerando ainda o fato da ausência de qualquer apêndice no esternito genital nos machos e nas fêmeas desta espécie, somos inclinados a abraçar a opinião de alguns dos antigos autores, segundo os quais não haveria nesta espécie cópula propriamente dita. Neste caso os machos depositariam os espermatóforos perto das fêmeas e estas mesmas os introduziriam no "atrim genitale". Aliás, a "lâmina subanalis" (Vide Foto 2, No. 2) é muito grande nas fêmeas, formando uma verdadeira tampa móvel, capaz de fechar completamente o "atrium" e impedir que os espermatóforos caiam para fóra.

A parede interna do "atrium" é revestida de uma camada espêssa de músculos estriados.

Segundo Verhoeff as fêmeas dos *Scolopendromorpha* carecem do segmento postgenital. Esta afirmação é certa; pode, porém, ser interpretada de modo diferente. Não acreditamos que esteja ausente, mas que secundariamente foi transformado nas "laminae sub- e adanales". Estas, de fato, são nas fêmeas muito maiores do que nos machos como também o segmento anal excede o dos machos 2-3 vêzes em comprimento. Êste assunto, porém, será tratado ainda explicitamente num outro capitulo dêste trabalho.

O segmento anal das fêmeas é muito grande e consiste da cratera anal, das lâminas adanais e da lâmina subanal. No lado dorsal observamos ainda um tergito, bastante quitinizado, um pouco maior do que o esternito genital. Entre a lâmina subanal (Vide Foto 2, No. 2) e a cratera anal (No. 4) existe em cada lado uma dobra que encobre uma cavidade profunda, cujos lados externos são formados pelas chamadas lâminas adanais. Estas ocorrem aos pares, sendo a posterior maior do que a anterior. São móveis e apresentam quitina mais espêssa nas pontas terminais. No lado basal são substituidas por dobras elásticas. A cratera anal estende-se ainda mais para trás e é formada inteiramente por dobras elásticas. Em seu centro se encontra o anus.

Órgãos sexuais do macho de *S. viridicornis* Newp.

(Estudo comparado de 12 machos)

Nesta espécie não é possível distinguir os machos das fêmeas por nenhum caraterístico morfológico fóra da esfera estritamente sexual. Tanto os machos como as fêmeas têm os mesmos pêlos, espinhos e a mesma constituição morfológica das patas.

Pelos órgãos sexuais, porém, a diferença entre os sexos é muito nítida e tão segura que não persiste a menor dúvida si o exemplar em questão é macho ou

fêmea. O caraterístico principal reside, como já indicamos acima, no segmento postgenital dos machos que inclue um esternito quitinizado e um órgão copulador grande e, além disso, no segmento anal, muito menor do que nas fêmeas. O primeiro segmento intermediário dos machos apresenta uma membrana melhor desenvolvida do que nas fêmeas (Vide Fotos 3 e 4 No. 2). O lado ventral principalmente é mais longo do que nas fêmeas. Esta membrana intermediária é elástica, apesar de incluir ilhotas de quitina. Pode ser dividida numa área ventral, em duas áreas laterais e numa área dorsal. A ventral apresenta quitina mais espêssa, formando dois bordos látero-longitudinais, salientes. As zonas laterais são novamente subdivididas por um sulco longitudinal curvo e conservam máxima elasticidade. A zona dorsal é bem estreita e encobre o lado basal do tergito anal.

O esternito genital (Vide Fotos 3 e 4, No. 3) é mais ou menos do mesmo tamanho que nas fêmeas, diferindo, porém, pela forma. Na linha longitudinal mediana observa-se uma fossa larga, profunda, mais nítida principalmente na área basal (Vide Foto 3). A esta fossa corresponde uma apófise quitinizada, interna, da primeira membrana intermediária, de maneira que, no ato de retração dos órgãos genitais, esta se prende ao lado externo do esternito. O esternito genital é curvo no meio, apresentando bordos laterais ligeiramente sinuosos.

Nestes bordos não se observam os chamados "styli genitales", geralmente presentes nos machos do gênero *Scolopendra*.

Na zona látero-posterior o esternito genital é continuado pela segunda membrana intermediária (Vide Foto 4, No. 5), muito menos quitinizada do que a primeira membrana e, consequentemente, mais elástica do que esta. Esta membrana encobre os lados basais do esternito postgenital, separa o segmento genital do anal e comunica diretamente com os detalhes basais das lâminas sub- e adanais. O lado interno desta membrana apresenta musculatura estriada muito espêssa, de maneira que nos parece que seu papel principal deve ser o de proteger os outros órgãos, cuja musculatura é mais fraca, contra uma pressão sanguínea demasiada. Em estado de retração o segmento postgenital se acha completamente imerso nesta membrana. Quando pela afluência do sangue os órgãos forem protraídos, esta membrana se adapta perfeitamente ao volume do segmento postgenital, ficando porém retraída (comparem-se os Fotos 3 e 4, No. 5) e protegendo, como já dissemos, as zonas basais do esternito postgenital e o lado dorsal do órgão copulador contra a excessiva pressão sanguínea. Contra esta mesma pressão a membrana é protegida de um lado pelo esternito genital e do outro pela "lâmina subanalis" (invisível nos fotos), igualmente quitinizada.

O segmento postgenital (23° segmento do tronco) apresenta em todos os machos do gênero *Scolopendra* uma forma bem caraterística. E' formado pelo esternito postgenital propriamente dito e pelo órgão copulador. O esternito

postgenital é dividido por uma fossa mediana longitudinal em duas placas de posição mais ou menos lateral. A forma destas placas é a de um quadrilátero com os ângulos arredondados (Vide Fotos 3 e 4, No. 6). O esternito apresenta uma camada quitinizada espêssa e abraça as zonas basais ventro-laterais do órgão copulador.

O órgão copulador é formado por duas peças laterais, de aspecto triangular e com ponta curva. No lado dorsal estas duas peças terminam numa zona menos quitinizada, estreita perto da ponta, alargando-se progressivamente e desaparecendo por baixo da segunda membrana intermediária. O lado ventral do órgão copulador forma uma linha reta e abre-se numa fenda longa, a começar no esternito postgenital e a terminar na ponta. Esta fenda constitue a abertura genital masculina (Vide Fotos 3 e 4, No. 7). Esta abertura é desfeita numa margem longitudinal externa e numa interna. A externa é constituida por um bordo saliente, quitinizado, enquanto que a interna apresenta-se franjada.

O segmento anal dos machos apresenta um tergito normalmente formado e de quitina espêssa, enquanto que as lâminas adanais são muito menores do que nas fêmeas. A lâmina subanal, muito grande nas fêmeas, é rudimentar nos machos. A cratera anal é igualmente pouco desenvolvida.

Scolopendra subspinipes subspinipes Leach (2 fêmeas)

O aparelho genital externo das fêmeas desta subespécie é completamente igual ao das fêmeas da espécie *subspinipes*. Por outro lado sua semelhança morfológica com o das fêmeas de *viridicornis* é tão grande que não é possível distinguir as fêmeas de ambas as espécies simplesmente pelo estudo topográfico ou comparado dos órgãos sexuais externos.

Nos machos, porém, (realizamos nossas pesquisas em 5 machos) não sucede assim. O primeiro segmento intermediário e o segmento anal também são iguais aos dos machos de *viridicornis*, como também o esternito do segmento genital. No bordo póstero-lateral do último, porém, observa-se de cada lado uma protuberância curta, o apêndice genital, não articulado, rudimentar, mas presente em todos os machos (Vide Fig. 1, No. 4), chamado por alguns autores "stylus genitalis". Ultrapassa apenas um pouco os bordos do esternito genital e, devido ao mesmo colorido dele e do ambiente, passa facilmente despercebido. Isto parece ter sucedido a Verhoeff, pois não menciona êstes apêndices genitais ao descrever em Bronn's, página 528, os órgãos sexuais de *subspinipes*.

Diferenças notáveis entre os machos de *subspinipes* e *viridicornis* existem também no segmento postgenital. O órgão copulador de *subspinipes subspinipes* é mais estreito e mais longo do que em *viridicornis*. O lado dorsal deste

órgão é nesta subespécie formado por uma linha reta do começo ao fim, enquanto que em *viridicornis* esta linha é curva. A dobra dorsal do órgão copulador é ainda mais elástica do que em *viridicornis*.

O esternito postgenital da subespécie é muito mais curto no lado ventral mediano do que em *viridicornis* e seus bordos posteriores apresentam na linha mediana uma profunda entrância, ausente em *viridicornis*. A fossa mediana é muito mais fraca e a forma tipica de um quadrilátero em cada lado não existe aqui (compare os Fotos com a Fig. 1, No. 6).

Scolopendra morsitans L. (4 machos e 3 fêmeas)

Enquanto que nas espécies e subespécies até agora estudadas não era possível distinguir os sexos por caraterístico morfológico algum fóra da esfera estritamente sexual, observamos em *S. morsitans* uma diferença morfológica muito nítida que permite facilmente distinguir os machos das fêmeas.

O caraterístico sexual secundário reside nas últimas patas, no lado dorsal, principalmente na tíbia (compare as últimas patas do macho e da fêmea na Fig. 2).

O lado dorsal do prefêmur, fêmur e da tibia dos machos é chato e um pouco convexo, sendo os bordos externos e posterior muito elevados e salientes. O bordo posterior do prefêmur e fêmur é interrompido no meio. Na tíbia os bordos laterais e posterior formam uma saliência contínua.

Nas fêmeas, ao contrário, o lado dorsal destes artículos é normal, i. é, não achatado, principalmente na tíbia. Bordos laterais elevados apenas são um pouco indicados no lado posterior do prefêmur e na zona anterior do fêmur. Na tibia estão inteiramente ausentes.

Estas diferenças existem sempre e foram por nós observadas em todos os indivíduos da citada espécie, de maneira que podem ser considerados como indícios seguros para distinguir os sexos.

Diferenças ainda mais nítidas e de muito maior importância residem nos próprios órgãos sexuais externos. Êstes apresentam, principalmente nos machos, uma forma tão típica, que é fácil distinguí-los não somente como tais, mas diferenciá-los ainda de todo e qualquer macho de outras espécies do gênero *Scolopendra*.

O elemento principal, que permite esta distinção reside no esternito genital, armado de dois apêndices longos, uniarticulados (Vide Foto 5, No. 4), mais longos muitas vêzes do que o próprio esternito.

Êstes apêndices são visíveis também, quando os segmentos genitais se encontram completamente retraidos dentro do 21° segmento. Neste caso aparecem

entre a fenda formada pela primeira membrana intermediária e recobrem pelo lado externo a "lâmina subanalis" e as duas "laminae adanales". Nesta circunstância encontram-se em posição paralela.

Êstes "styli genitales" são tão nítidos que parece quasi impossível que possam ter passado despercebidos pelos especialistas Kraepelin e Attems e que o último escrevera em seu trabalho sistemático sôbre os Quilópodos que não se deve dar importância alguma aos órgãos genitais externos na sistemática destes artrópodos. Também Verhoeff não menciona êstes órgãos em seus trabalhos.

Nos machos de *S. morsitans* a primeira membrana intermediária (Vide Foto 5, No. 2) é menos desenvolvida do que em *viridicornis* e *subspinipes*. Apresenta porém sempre uma forma muito característica (comparem-se os Fotos 3 e 5). Na linha ventral mediana ela aparece muito pouco abaixo do 21º esternito, enquanto que nas zonas ventro-laterais ela forma um ângulo de cada lado e dobra para trás, abraçando dorsalmente o tergito anal. O tamanho diminuto desta membrana na zona ventral mediana e os dois ângulos internos formam um caraterístico específico para os machos da espécie *morsitans*.

O esternito genital é relativamente bem desenvolvido e apresenta três novos caraterísticos. O primeiro consiste num sulco mediano, nítido e reto que percorre e esternito do bordo anterior ao posterior, dividindo-o em duas metades. Estas duas áreas apresentam uma zona central elevada, enquanto que lateralmente são deprimidas.

O segundo caraterístico é formado pelo bordo posterior reto do esternito genital, principalmente na zona ventral. Êste bordo sempre é curvo em *viridicornis* e em *subspinipes*, enquanto que nesta espécie forma no meio um ângulo de 90 graus com o sulco mediano (Vide Fotos 3, 4 e 5).

O terceiro caraterístico é o mais importante e reside, como já dissemos, nos dois apêndices genitais. Originam-se numa pequena cavidade, de cada lado, do bordo posterior do esternito genital e apresentam forma de cone, sendo um pouco curvos de dentro para fóra. Estão armados, como também o esternito genital, postgenital e o órgão copulador, de poucos pêlos sensoriais, muito pequenos. Os dois apêndices atingem ou ultrapassam o comprimento do próprio esternito genital. Apresentam uma leve camada quitinosa, sendo, porém, bastante móveis.

O esternito postgenital é muito mais curto do que o genital. E' mais curto também do que o postgenital de *viridicornis* e não apresenta na linha mediana uma reentrância tão profunda como na última espécie. Uma segunda diferença reside no fato de que o esternito postgenital de *morsitans* obedece mais a uma posição ventral, formando assim um anel ventral semicircular, enquanto que em *viridicornis* êste esternito é dividido em duas placas laterais.

O órgão copulador de *morsitans* apresenta igualmente uma forma típica. No lado dorsal observa-se uma zona pouco quitinizada muito larga e elástica, protegida contra a pressão sanguínea excessiva pela segunda membrana inter-

mediária. As linhas dorso-laterais são sinuosas. A parte ventral do órgão copulador é mais larga do que em *viridicornis* e apresenta em cada lado, além da dobra interna, franjada, que forma a abertura genital masculina, dois bordos de quitina salientes (Vide Foto 5, No. 7). A abertura genital estende-se da ponta do órgão copulador até a sua base, sendo porém estreita na frente e alargando-se atrás. O órgão copulador não é arredondado como em *viridicornis*, nem tão pouco apresenta a forma de cunha como em *subspinipes*, mas é sinuoso no lado dorsal, enquanto que sua parte ventral se estende mais para trás.

O segmento anal é pequeno, apresentando um tergito pouco desenvolvido. As lâminas subanal e adanais são quasi rudimentares.

Os órgãos sexuais externos das fêmeas distinguem-se dos dos machos pelo maior desenvolvimento do esternito genital, pela ausência dos apêndices genitais, do segmento postgenital e pelo maior desenvolvimento do segmento anal. O tergito anal e a "lâmina subanalis" atingem seu pleno desenvolvimento. O segmento anal é muito mais longo do que o genital. A abertura genital apresenta forma semilunar.

Scolopendra angulata, n. subsp. (3 machos e 6 fêmeas)

Infelizmente obtivemos apenas duas fêmeas vivas desta subespécie, enquanto que as outras fêmeas e todos os machos desta subespécie e também da espécie *S. angulata* Newp. vieram em nossas mãos apenas após longa conservação em meio liquido. Os órgãos sexuais externos encontram-se, portanto, retraídos e extremamente rígidos e quebradiços, de maneira que não nos foi possível prepará-los convenientemente.

Quanto aos órgãos sexuais externos das fêmeas da subespécie, observamos inteira concordância com os das fêmeas de *viridicornis*, sendo apenas as medidas um tanto diversas.

MEDIDAS DOS ÓRGÃOS SEXUAIS DAS ESPÉCIES NEOTRÓPICAS:

Comprimento	*S. viridicornis* (macho)	*S. subspinipes* (macho)	*S. morsitans* (macho)	*S. angulata angulata* (fêmea)
Total do animal	118-168mm	94-139mm	67-98mm	115-139mm
Total dos segm. genitais ..	6.5-7mm	3.5-4mm	3,5mm	6,5mm
1.º segm. intermediário ..	1,5 mm	0.5 mm	0,2mm	1 mm
Esternito genital	2,5 mm	2 mm	1,5mm	2 mm
Apêndice genital	—	0,1 mm	1 mm	—
Esternito postgenital ...	1 mm	0.3 mm	0,3mm	—
Órgão copulador	2 mm	1.3 mm	1,1mm	—

DISCUSSÃO

O estudo comparado dos órgãos sexuais dos *Scolopendromorpha* e particularmente do gênero *Scolopendra* está ainda no início. Apesar disso, porém, já existe uma grande divergência nos têrmos técnicos, surgida entre os autores a respeito das diferentes zonas dos segmentos sexuais externos e do segmento anal. Achamos, portanto, oportuno reunir numa nomenclatura simples e universal o que até agora encontramos na literatura sôbre o assunto. Desta maneira evitam-se futuras confusões que costumam dificultar muito o avanço das pesquisas.

Até ao ano de 1910 mais ou menos, predominava a opinião de que a zona genital consistia apenas de um único segmento. Assim Verhoeff, em Bronn's Klassen u. Ordn., página 25, divide os últimos segmentos dos *Scolopendromorpha* nos segmentos pregenital, genital e anal. O segmento "pregenital" deste autor não é mais do que o último segmento do tronco com as últimas patas. Deixamos de lado propositalmente o nome que Verhoeff deu a êste segmento para não causar uma confusão inútil.

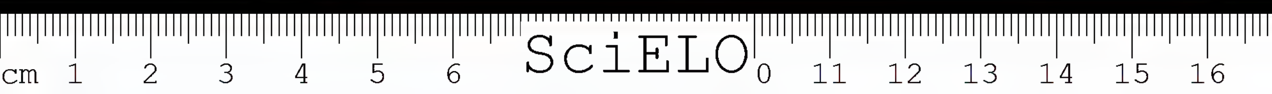
O segmento "genital" abrange toda a zona genital, omitindo o citado autor qualquer descrição topográfica. Igualmente deficiente é sua descrição do segmento "anal". Diz que o tamanho deste segmento sempre é muito menor do que o do segmento genital. Isto não é exato, pelo menos no tocante às fêmeas das espécies neotrópicas do gênero *Scolopendra*, nas quais, como já vimos, o maior tamanho do segmento anal, constitue justamente um caraterístico do sexo, permitindo distinguir fàcilmente os machos das fêmeas. Continua o citado autor, dizendo que o segmento anal apresenta forma triangular, devido ao fato de ser formado por 3 partes: "uma placa dorsal, mais ou menos nítida e duas placas anais".

Nas espécies por nós estudadas nunca observamos a forma triangular. Pelo contrário, vimos como a cratera anal forma sempre um círculo, cujos contôrnos externos são acompanhados pelas placas dorsal, ventral e laterais. Querer, portanto, atribuir a forma triangular à existência das placas quitinizadas, é inexato.

A "placa dorsal" de Verhoeff nós chamamos de tergito anal, porque apresenta a forma de um verdadeiro tergito, com quitina mais ou menos espêssa e ainda porque achamos que esta denominação está mais conforme com os tergitos do tronco.

As "placas anais" de Verhoeff nós chamamos de "laminae adanales" ou lâminas adanais, porque êste nome já indica sua posição lateral. O próprio Verhoeff, aliás, mais tarde já usara esta denominação.

Neste conjunto o autor omitiu a presença também da "lâmina subanalis".



O primeiro que demonstrou que a zona genital dos *Scolopendromorpha* consistia em dois segmentos foi Heymons. Êste autor é, porém, muito confuso na descrição topográfica destes segmentos. Chama, p. ex., de "órgão copulador" (Kopulationsorgan) todo o conjunto dos segmentos genital, postgenital e da segunda membrana intermediária dos machos de *Scolopendra*. O órgão copulador propriamente dito êle apelida de "apêndice copulador" (Kopulationsanhang). Além disso fala numa "lâmina accessória" ou "sternitum accessorium", localizada atrás da nossa segunda membrana intermediária. Esta lâmina accessória não é mais do que o esternito postgenital.

O citado autor continua dizendo que em todos os machos do gênero *Scolopendra* se encontram nos bordos do esternito genital "extremidades rudimentares", maiores ou menores, uniarticuladas, chamadas "styli genitales". Nós preferimos o nome de "apêndices genitais", porque a denominação "styli genitales" dá lugar a confusões destes apêndices com os dos insetos. Além disso constatamos pelo exame comparado das espécies neotrópicas que êstes apêndices não existem em todas as espécies do gênero *Scolopendra*, contrariamente, portanto, ao que Heymons afirmou.

Afim de esclarecermos a nomenclatura das diferentes peças que constituem os segmentos genital, postgenital e anal apresentamos o seguinte quadro:

Nomenclatura definitiva:	Nomenclatura antiga:
Segmento das últimas patas do tronco	Segm. pregenital (Verhoeff);
Primeira membrana intermediária	Segm. pregenital (Heymons, Attems);
Segmento genital	Styli genitales (Heymons);
Apêndices genitais	Estiletes genitais (Verhoeff);
	Pele dilatadora (Heymons);
Segunda membrana intermediária	Segm. genital (Heymons, Attems);
Segmento postgenital	"Sternitum accessorium" ou lâmina accessória ou "sternac" (Heymons);
Órgão copulador	Apêndice copulador (Heymons);
Segmento anal	Telson (Verhoeff, Attems);
Tergito anal ou *"lamina supraanalis"* ...... ou *lâmina supraanal*	"Lamina supraanalis" (Verhoeff);
"Laminae adanales" ou *lâminas adanais*	Idem (Verhoeff);
"Lamina subanalis" ou *lâmina subanal*	Idem (Verhoeff).

Verhoeff, que considerava antigamente toda a zona genital e postgenital como um só segmento, corrigiu seu ponto de vista segundo os estudos de Heymons no gênero *Scolopendra*. Em Bronn's: Klassen u. Ordnungen, à página 87, Verhoeff afirma que nas fêmeas adultas de *Scolopendra* observa-se na linha

mediana longitudinal um sulco nítido do esternito genital, ausente nos machos. Nós, porém, constatamos que êste sulco está presente igualmente em todos os indivíduos masculinos deste gênero (Vide Foto 5, No. 3).

Como segundo ponto de discussão apresentamos a formação embrionária e definitiva do segmento anal e postgenital e sua explicação em sentido filogenético.

Verhoeff, fazendo a descrição comparada dos estados larvários dos Quilópodos (Bronn's Klassen u. Ordn.) diz que "os tergitos do segmento genital e postgenital estão fundidos numa só placa". Para esta afirmação êle se baseia nos estudos de Heymons, realizados em embriões de *Scolopendra cingulata* Latz. Em indivíduos adultos do mesmo gênero nós nunca observamos um tergito comum aos dois segmentos. Si, portanto, as pesquisas de Heymons, feitos apenas em *S. cingulata*, corresponderem à verdade, então somos de opinião que êste tergito comum já deve desaparecer nas primeiras fases larvárias em favor de um maior desenvolvimento da segunda membrana intermediária e da "lamina subanalis". Interessante é, porém, o fato que Heymons não se refere mais a êste tergito e não explica a sua redução ou transformação. A Figura 2 da prancha XI em Bronn's apresenta a zona gênito-anal da fase postembrionária do macho de *S. cingulata*, porém sem o tergito comum. Nos Litobiomorfos, aliás, êste tergito comum permanece também nos indivíduos adultos.

A nossa opinião de que no gênero *Scolopendra* êste tergito comum é transformado durante a evolução na segunda membrana e na lâmina subanal é corroborada pelo fato de que estas últimas são extremamente pequenas nas primeiras fases embrionárias, enquanto que nos indivíduos adolescentes e mais ainda nos adultos apresentam um tamanho bastante grande.

Quanto à evolução do telson, Verhoeff (Bronn's, página 527-528) fala "numa grande redução da zona toda" nos *Scolopendromorpha* em oposição aos *Lithobiomorpha*. Segundo o A. esta redução deve ser explicada em sentido filogenético e confirmaria "a natureza secundária da zona genital" dos Escolopendromorfos.

Segundo a nossa opinião, Verhoeff julgou um tanto arbitrariamente e isso em dois sentidos. Primeiro êle opina que o "telson" dos Escolopendromorfos tenha passado por uma contínua redução durante a evolução embrionária e postembrionária. Nos indivíduos adultos e mesmo adolescentes das espécies neotrópicas do gênero *Scolopendra* não se pode, a nosso ver, absolutamente falar de uma redução do telson. Pelo contrário, estamos inclinado a pensar que justamente o segmento anal ficou gradativamente maior e melhor desenvolvido à custa do segmento postgenital, principalmente nas fêmeas em que o comprimento do segmento anal excede o dos segmentos genital e postgenital juntos. Além disso

o segmento anal tanto nos machos como nas fêmeas apresenta tantas placas como o telson dos Litobiomorfos, sendo principalmente o tergito anal e a lâmina subanal muito bem desenvolvidos. Nos machos o segmento anal é menor do que nas fêmeas, mas apresenta igualmente todas as placas. Não vemos, portanto, o motivo que tenha forçado Verhoeff a considerar o telson dos *Scolopendromorpha* um segmento reduzido, pelo menos não no gênero *Scolopendra*. Quanto aos outros gêneros desta subordem ainda não existe nenhum estudo topográfico e ainda menos um estudo comparado sôbre a evolução do segmento anal.

Em segundo lugar a redução do telson seria o motivo da "natureza evolutiva secundária da zona genital". Concordamos plenamente com a natureza secundária na evolução dos segmentos genital e postgenital no gênero *Scolopendra*. Nas fêmeas principalmente observamos a ausência completa do esternito postgenital e dos apêndices do esternito genital. Nos machos existe igualmente uma redução evolutiva nestes segmentos. No esternito genital de *S. morsitans* vemos apêndices genitais bastante longos ainda, mas sempre apenas uniarticulados, enquanto que nos *Anamorpha* êstes apêndices são articulados nos dois sexos. Em *S. subspinipes* êstes apêndices formam apenas ainda dois botões quasi microscópicos e em *viridicornis* estão inteiramente ausentes.

Nos Escolopendrídeos machos não existe igualmente um penis no sentido morfo-comparado, presente em muitos Litobiídeos. Além disso, tanto nos machos como nas fêmeas de *Scolopendra* desapareceram os dois tergitos dos segmentos genital e postgenital, presente nos *Anamorpha* sob a forma de um sintergito.

Apesar de tudo isso, porém, não vemos porque a "redução" do telson seja responsável pela transformação secundária destes segmentos. Pelo contrário, somos de opinião que os dois segmentos se reduzem na mesma proporção em que o telson se desenvolve. Esta nossa afirmação é comprovada pela evolução embrionária e postembrionária dos segmentos genital, postgenital e anal nas fêmeas de *Scolopendra*. Pois, segundo as pesquisas de Heymons, existe no estado postembrionário ainda uma formação de duas protuberâncias que correspondem ao segmento postgenital das fêmeas, protuberâncias estas que desaparecem nas fases evolutivas seguintes na mesma proporção em que o telson e a lâmina subanal se desenvolvem.

Como terceiro ponto nesta discussão queríamos chamar a atenção para a descrição topográfica do órgão copulador do macho de *S. subspinipes*, feita por Verhoeff em Bronn's, página 528. Esta descrição é deficiente em três pontos.

Primeiro o A. refere-se ao esternito genital, sem contudo mencionar a presença dos dois minúsculos apêndices dos bordos laterais deste esternito (Vide Fig. 1. No. 4).

Em segundo lugar, o autor procede à descrição do órgão copulador, mas fá-lo de maneira tal que é impossível reconhecê-lo: "O órgão copulador de *S. subspinipes* apresenta a forma de uma cunha de três cantos, dois no lado dorsal e um no lado ventral, ao longo da fenda genital. O órgão copulador termina atrás numa ponta". Quanto à pele dorsal que liga as duas placas laterais do órgão copulador, nós observamos que é bem estreita e não forma absolutamente dois cantos. A linha dorsal do órgão copulador é reta e não curva, como pensa Verhoeff, e a área terminal é estreita, mas não forma um ângulo agudo (Verhoeff); pelo contrário, é arredondada ventralmente.

Em terceiro lugar, Verhoeff incorreu em erro porque, ao descrever os órgãos sexuais de *subspinipes*, apresenta, para a melhor elucidação do assunto, as duas figuras antigas de Heymons. O autor esquece-se, porém, do fato que ambos os desenhos nem de *S. subspinipes* são, mas de *S. cingulata* Latz. (conferir as duas Figs. No. 64 da prancha XXIX e a Fig. No. 2 da prancha XI em Bronn's). Admira, pois, como Verhoeff pode criticar a descrição de Heymons, dizendo que êle não encontrou a mesma forma do órgão copulador como Heymons, isso principalmente no tocante à Fig. da prancha XI, onde nem se trata de um indivíduo adulto, mas apenas de uma fase larvária, cuja evolução ainda não está completa.

É-nos incompreensível como Verhoeff pode descrever os órgãos sexuais dos machos de uma espécie e ainda entrar em crítica, apresentando para a elucidação do assunto o desenho de outra.

Quanto à divergência sôbre a forma externa do órgão copulador entre Verhoeff e a nossa descrição, queriamos chamar a atenção para o fato de, como o próprio Verhoeff concede, ser o órgão copulador sumamente elástico, mudando de forma segundo a maior ou menor pressão sanguínea. Diante deste fato já não tem grande valor qualquer descrição que insista por demais nas formas externas unicamente, sem mencionar o comprimento, etc., porque, como é sabido, em quasi todo o indivíduo há ligeiras diferenças no estado de pressão sanguínea e, portanto, a forma do órgão copulador varia ligeiramente, sendo esta forma fixada em cada caso nos líquidos conservadores.

Por êsse mesmo motivo consideramos de grande vantagem o fato de termos podido, no presente trabalho, utilizar-nos de animais na maior parte vivos, conseguindo fixar seus órgãos sexuais naquele estado de ereção que corresponde exatamente ao natural.

CONCLUSÃO

Pelo presente estudo topográfico e comparado dos órgãos sexuais externos das espécies e subespécies mais frequentes no Brasil do gênero *Scolopendra* podemos fazer as seguintes conclusões:

1.º — Os órgãos sexuais externos dos machos formam um precioso e seguro caraterístico morfo-específico a ser considerado em primeiro lugar na sistemática deste gênero.

2.º — Êstes caraterísticos estão localizados:

a) no comprimento e na forma dos bordos do esternito genital;

b) na ausência ou presença, no comprimento e forma dos apêndices do esternito genital;

c) na forma externa e na posição das placas que constituem o esternito postgenital;

d) no comprimento e na forma externa do órgão copulador.

3.º — Os indivíduos masculinos das subespécies não podem ser diferenciados das espécies às quais pertencem, unicamente pelos órgãos sexuais externos.

4.º — Os órgãos sexuais externos das fêmeas de todas as espécies por nós comparadas apresentam tão grande uniformidade em sua construção morfológica que não podem ser considerados como especificamente caraterísticos. Estas formas devem, portanto, ser classificadas segundo os métodos morfológicos usuais.

5.º — Os machos e fêmeas da mesma espécie podem ser distinguidos facilmente como segue:

MACHOS:	FÊMEAS:
Esternito genital sempre com apêndices, exceção feita em *S. viridicornis*.	Sempre sem apêndices.
Esternito postgenital sempre presente.	Nunca presente.
Órgão copulador grande.	Ausente.
Segmento anal menor do que os segmentos genitais e invisível do lado ventral, com lâmina subanal pequena e duas lâminas anadais menores ainda.	Sempre maior do que os dois segmentos genitais juntos e visível do lado ventral, com lâmina subanal grande e com as duas lâminas adanais maiores do que nos machos.
Tergito anal bem desenvolvido.	Maior ainda do que nos machos.
Abertura genital atrás.	No esternito genital, portanto, muito mais em frente do que nos machos.

6.º — Não existem outros caraterísticos morfológicos externos que permitissem distinguir os machos das fêmeas, com exceção de *S. morsitans* (lado dorsal das últimas patas).

7.º — Mesmo quando os órgãos sexuais se encontram retraídos no interior da cavidade do 21º segmento do tronco podem ser distinguidos os machos das fêmeas pelas partes dos órgãos que estão à vista, sendo necessário, porém, um certo treino.

8.º — Nas três espécies mais frequentes no Brasil, os órgãos sexuais dos machos permitem estabelecer uma chave sistemática muito simples:

a) Esternito genital dos machos sem apêndice lateral: *S. viridicornis*;

b) Esternito genital dos machos com um apêndice quasi microscópico: *S. subspinipes*;

c) Esternito genital dos machos com um apêndice longo em cada lado, facilmente visível, fracamente piloso, atingindo ou excedendo seu comprimento o do próprio esternito: *S. morsitans*.

BIBLIOGRAFIA

Attems — Das Tierreich. Scolopendromorpha. 1930.

Brölemann, H. — Myriapodes du Musée de São Paulo — Rev. Mus. Paulista **5**:35-44.1902 *et* **6**:63-71.1904.

Chamberlin, R. — Bull. Mus. Harvard **58**:151-195.1914.

Heymons, R. — Entwicklungsgeschichte der Skolopender — Bibl. zool. 1901.

Kräpelin, K. — Revision der Scolopendriden — Mitt. Naturh. Mus. Hamburg **20**.1903.

Latzel, R. — Die Myriapoden der Österreichisch-Ungarischen Monarchie 1,2. Viena. 1880.

Verhoeff, K. W. — Zur vergleichenden Morphologie der Copulationsorgane und Genitalanhänge der Tracheaten — Zool. Anz. **687**:60-77.1902.

— Über die Endsegmente des Körpers der Chilopoden — Nov. Acta, Halle, LXXXI, **5**:259-297.1903.

— Über die Entwickelungsstufen der Lithobiiden und Beitrag zur Kenntnis der Chilopoden — Zool. Jahrb. Suppl. VIII:195-298.1905.

— Chilopoda in Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreichs (nas páginas citadas no texto). 1902-1925.

(Trabalho da Seção de Zoologia Médica do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 5-2-42 e dado à publicidade em fevereiro de 1943).

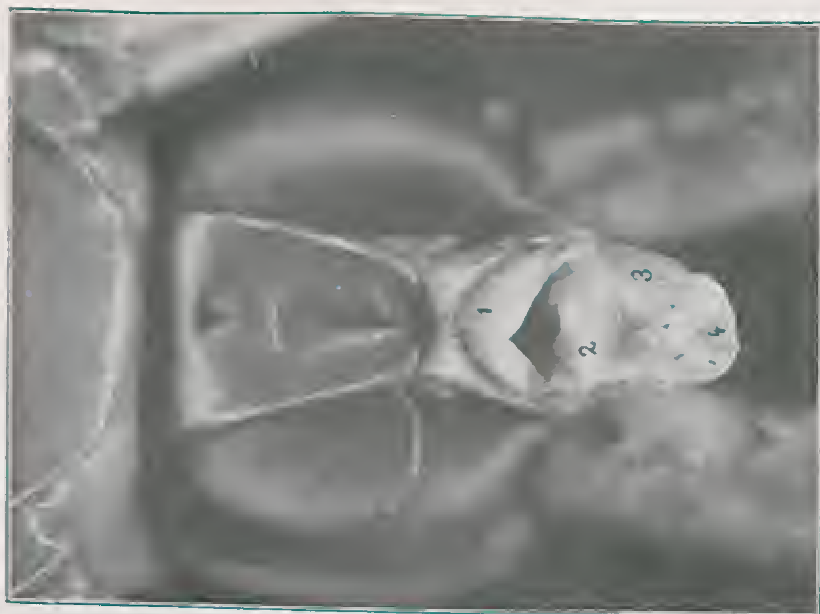


Foto 2

Scolopendra viridicornis Newp., fêmea com a zona genito-anal completamente estendida. 1. esternito genital; 2. "lamina subanalis"; 3. "laminae adanales"; 4. abertura anal.



Foto 1

Scolopendra viridicornis Newp., fêmea, apresentando a zona genito-anal em estado pouco protraído, vendo-se o esternito genital (em frente), o tergito anal (no fim) e as dobras quitinosas látero e subanais (no meio).

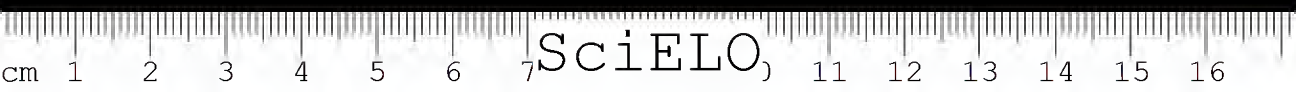

cm 1 2 3 4 5 6 7
SciELO
11 12 13 14 15 16



FOTO 3

Scolopendra viridicornis NEWP., macho com a zona genital vista do lado ventral. 1 último ou 21.° esternito; 2. primeira membrana intermediária; 3 esternito genital ou 22.° esternito; 5 segunda membrana intermediária; 6. esternito postgenital ou 23.° esternito com o órgão copulador.

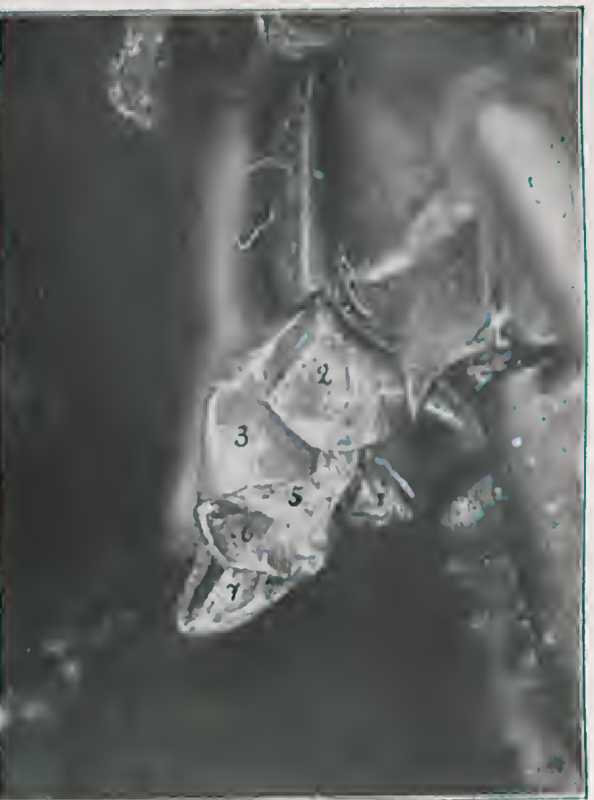
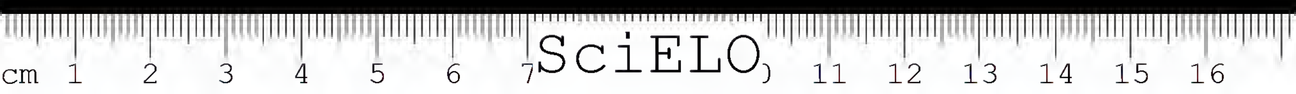


FOTO 4

Scolopendra viridicornis NEWP., macho com a zona gênito-anal vista do lado. 7. face lateral do órgão copulador; 8. região anal.


cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16

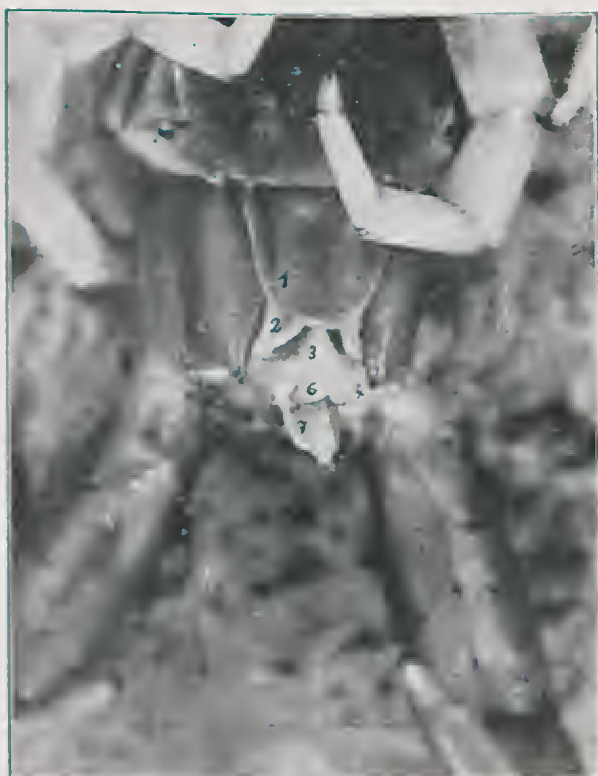
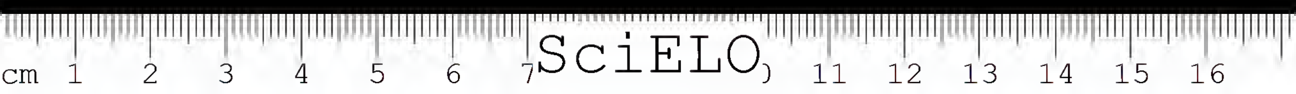


FOTO 5

Scolopendra morsitans LINNÉ, macho, apresentando a zona genital vista pelo lado ventral. 1. 21.º esternito; 2. primeira membrana intermediaria; 3. esternito genital; 4. apêndice genital; 6. esternito postgenital; 7. órgão copulador.


cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16

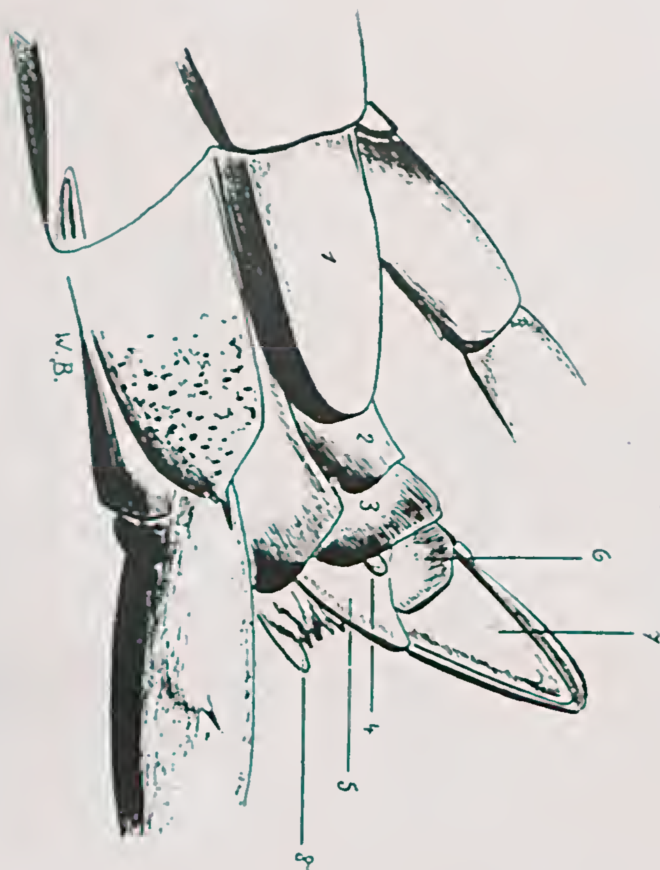
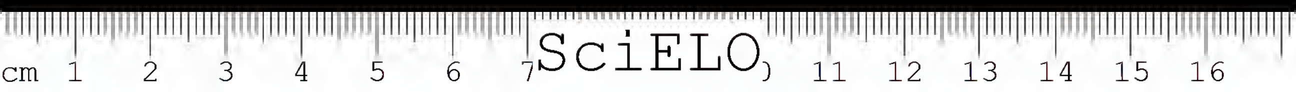


FIG. 1

Scolopendra subspinipes subspinipes LEACH, macho 1. 21.º esternito; 2. primeira membrana intermediária; 3. esternito genital; 4. apêndice do esternito genital; 5. segunda membrana intermediária; 6. esternito postgenital; 7. órgão copulador; 8. região anal.


cm 1 2 3 4 5 6 7
SciELO
11 12 13 14 15 16

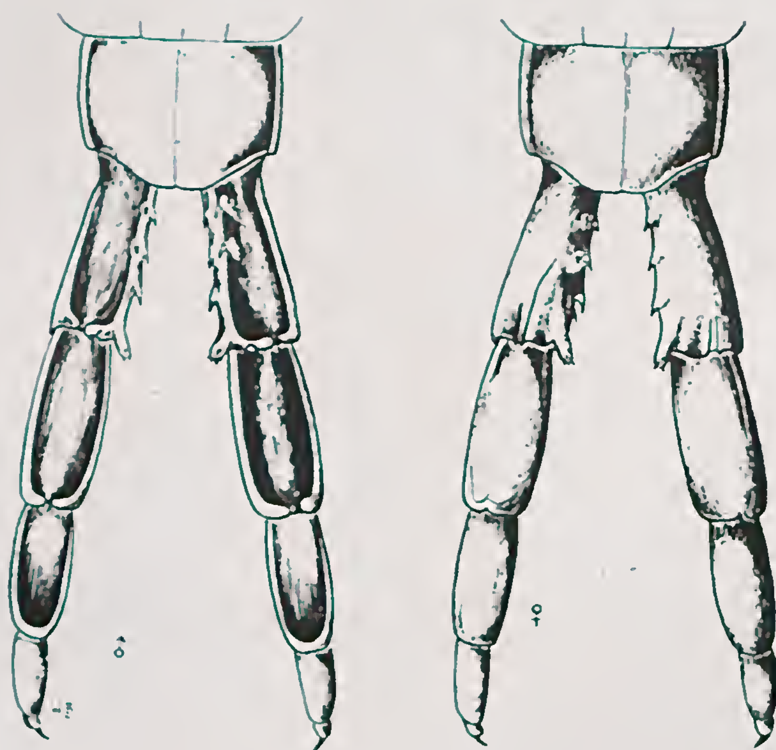
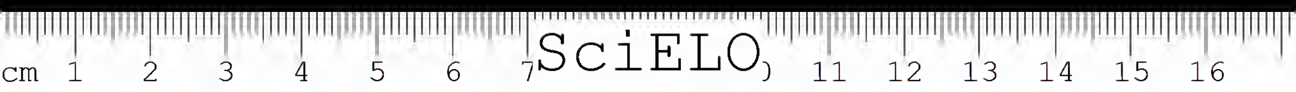


FIG. 2

Scolopendra morsitans LINNÉ, macho e femea. Ambas as formas se distinguem facilmente pela formação morfologica dos prefémur, fémur e tibia das ultimas patas que, no macho apresentam bordos laterais muito salientes, enquanto que na fêmea êstes bordos são quasi inexistentes, apresentando-se os articulos arredondados dorsalmente.



595.62

REVISÃO DAS CHAVES SISTEMÁTICAS DE CHAMBERLIN E ATTEMS SÔBRE AS ESPÉCIES NEOTRÓPICAS DO GÊNERO *OTOSTIGMUS* POR., 1876

(Subfam. *Otostigminae* Krpln., 1903)

POR

WOLFGANG BÜCHERL

R. Chamberlin foi o primeiro a tentar reunir as espécies brasileiras do gênero *Otostigmus* numa chave sistemática. Apesar desta tarefa fácil, pois a chave abrangia apenas 9 espécies, das quais 5 êle descrevia então como novas, o autor não conseguiu uma diferenciação morfológica segura entre as poucas espécies, de maneira que sua chave pouco valor tem hoje para a sistemática.

Demais não fez distinção entre os subgêneros *Otostigmus* e *Parotostigmus* (*Parotostigma* Pocock, 1895), referindo todas as espécies brasileiras como pertencentes simplesmente ao gênero *Otostigmus*.

O autor também não se preocupou com os sexos dos indivíduos por êle descritos como novas espécies e não se deu conta absolutamente do chamado *"dimorfismo sexual"* entre machos e fêmeas, tão frequente justamente nas espécies neotrópicas deste gênero.

Além de tudo isso, os caracteres morfológicos, sôbre os quais repousa sua chave sistemática, como sejam: ausência de pêlos num certo número de artículos basais das antenas; presença ou ausência de um sulco mediano no último esternito; ausência ou presença de um espinho tarsal no 20.º par de patas; isolamento ou junção dos dentes laterais com os centrais na placa dentária do coxosternum forcipular; colorido igual ou diverso do segmento cefálico e dos segmentos do tronco; sulcos episcutais nos tergitos, etc..., são variáveis demais para poderem ser tomados como base, sendo que, de fato, no máximo, lhes cabe um valor sistemático secundário.

O citado autor certamente teve apenas poucos exemplares ou um só (como confessa ao descrever as seguintes espécies novas: *O. rex*, *O. casus*, *O. suitus*, *O.*

tidius e *O amazonae*, espécies novas estas das quais o autor desconhece o sexo), de maneira que seus caracteres morfológicos foram descritos num sentido muito limitado, isto é, válidos apenas em relação a um exemplar.

Tivemos a oportunidade de examinar séries de indivíduos, machos e fêmeas, das espécies de Chamberlin, chegando à conclusão de que quasi nenhum daqueles caracteres morfológicos é aproveitável para determinar com segurança uma espécie, principalmente quando se trata de indivíduos fêmeas.

De fato, *O. rex*, espécie nova esta, da qual o próprio autor diz "que é dificilmente distinguível da fêmea de *scabricaudus*", foi por nós reconhecida como a própria fêmea da aludida espécie.

O. suitus foi descrito insuficientemente, de maneira que será praticamente impossível reencontrá-lo no futuro. O mesmo se dá também com *O. casus*.

Em 1930, Attems elaborou uma chave sistemática completa sôbre o gênero *Otostigmus*, chave esta que abrange 2 novos subgêneros, 70 espécies (5 subdivididas em 11 subespécies), 2 variedades e 2 espécies incertas.

O autor distingue os dois subgêneros, *Otostigmus* e *Parotostigmus*, da seguinte maneira:

> Prefêmur das últimas patas com espinhos. Coxopleuras terminando sempre numa ponta provida de espinhos —
>
> subg. *Otostigmus*.

> Prefêmur das últimas patas sem espinhos; no macho às vêzes com um apêndice perto da ponta da base. Coxopleuras sem ponta ou com ponta pouco saliente; geralmente sem espinhos —
>
> subg. *Parotostigmus*.

Esta divisão, apesar de ter sido feita com copioso material à mão, é imprecisa, porquanto existem Parotostigmineos, cujas coxopleuras terminam numa ponta longa, mais comprida mesmo do que na maioria das espécies do subgênero *Otostigmus* (vide *O. cavalcantii*) e ainda, porque existem espécies de Parotostigmíneos que apresentam espinhos na zona terminal das coxopleuras do último segmento do tronco.

Além disso, a caraterização do subgênero *Parotostigmus* pelos apêndices nos prefêmures do último par de patas tem o inconveniente de se referir apenas aos machos de muito poucas espécies, sendo que a imensa maioria dos machos das outras espécies do mesmo subgênero carecem desta apófise. Neste conjunto cabe-nos assinalar que o autor omitiu a citação do apêndice no último tergito e da apófise na tíbia do último par de patas, também verificados em machos de algu-

mas espécies do dito subgênero e aos quais, no mínimo, cabe o mesmo valor sistemático que aos apêndices dos prefêmures do último par de patas.

Aliás, existem muitas espécies do subgênero *Parotostigmus*, cujos machos não se distinguem absolutamente das fêmeas, (carecem de qualquer apófise ou apêndice no último segmento do tronco), de maneira que julgamos pouco eficiente o sistema de Attems, caraterizando o subgênero pela simples presença de apêndices em alguns machos de algumas espécies.

Vejamos alguns detalhes da chave sistemática de Attems sôbre o subgênero *Parotostigmus*:

> "No. 52 (página 136, *op. cit.*) — 4 artículos basais das antenas sem pêlos. Esternitos com sulcos longitudinais completos —
>
> *O.* (*P.*) *limbatus*".

Quanto a esta caraterização deve ser dito que o número de artículos basais desprovidos de pêlos só em muito poucos indivíduos é de 4, na maioria é de 2½ — 3 e raras vêzes de 3¼. Os sulcos longitudinais "completos" são de fato encurtados nos esternitos dos últimos segmentos do tronco, de maneira que no 19.° esternito êles apenas se estendem ainda até a metade da placa, estando já totalmente ausentes nos esternitos 20 e 21.

(No tocante à nova caraterização vide: "Coleção quilopódica do Instituto Butantan", séries de 7 exemplares adultos, machos e fêmeas).

> "No. 54 (na mesma página) — Somente o 1.° ou o 1.° e o 2.° par de patas com 2 esporões tarsais. Coxa do 20.° par de patas do macho sem apófise curva. 20.° par de patas com 1 esporão tarsal — *O. scabricauda*".

Quanto a esta espécie cumpre salientar que ha um espinho também no fêmur e um na tíbia, no lado interno apical, do 1.° par de patas, sempre presentes em qualquer indivíduo adulto de ambos os sexos. Além disso admira Attems ter classificado os machos desta espécie pela ausência de uma apófise curva na coxa do penúltimo par de patas, omitindo de mencionar o verdadeiro caraterístico destes machos: os 2 apêndices internos da coxa no 21.° par de patas. O colorido não é sempre verde de oliva, mas marrom ou côr de laranja escuro, podendo ser uniforme em todo o tergum, inclusive os segmentos cefálicos, ou podendo os últimos apresentar um colorido castanho escuro e os tergitos um verde escuro. O 2.° par de patas pode estar com ou sem um esporão tarsal.

(Coleção quilopódica do Instituto Butantan, 32 exemplares adultos, machos e fêmeas).

"No. 57 (na mesma página) — Cabeça e primeiro tergito castanho escuro, os outros tergitos verdes. 20.º par de patas sem esporão tarsal — *O. (P.) rex*".

Quanto a esta espécie, já escrevemos o suficiente para estar patente que se trata apenas da fêmea de *O. scabricauda*.

"À página 161 — Esternitos sem sulcos — *O. caudatus*".

Pela revisão de 23 exemplares na coleção do Instituto Butantan constatamos que em todos os individuos adultos existem dois sulcos medianos nos esternitos, ainda que curtos e muito leves. Attems não fala em esporão tarsal algum, enquanto que de fato existem dois esporões tarsais do 1.º ao 6.º ou 7.º par de patas. Daí até ao 20.º par ha um esporão só. No 1.º par de patas existem ainda um esporão no prefêmur, um no fêmur e um na tibia.

"No. 64 (página 137) — Antenas com 17 articulos, dos quais 2 $^1/_3$ a 3 articulos basais sem pêlos. No. 68 — Os primeiros 4 a 5 pares de patas com dois esporões tarsais. 20.º par de patas sem esporão tarsal — *O. (P.) tibialis*".

Quanto à descrição desta espécie, cabe nos referir que raramente constatamos apenas 17 artículos antenais, mas geralmente 18 ou então 17 numa antena e 18 na outra.

Existem igualmente muitos indivíduos desta espécie, tanto machos quanto fêmeas, que apresentam apenas dois articulos basais das antenas sem pêlos. Em nenhum indivíduo da citada espécie observamos dois esporões tarsais nos primeiros 4-5 pares de patas, mas somente no primeiro e, raríssimas vêzes ainda, no segundo par de patas. Existe, porém, um esporão no fêmur e um na tibia do primeiro par. 20.º par de patas geralmente com um esporão no tarso.

(Confronto entre 23 exemplares adultos, machos e fêmeas, da coleção quilopódica do Instituto Butantan).

Quanto aos machos da presente espécie deve ser salientada ainda a presença de um espinho no lado interno da tibia do último par de patas, presente já em animais adolescentes e sempre ausente em fêmeas de qualquer idade.

A chave sistemática de Attems abrange 70 espécies, mas os poucos exemplos citados já serão suficientes para demonstrar as graves deficiências da mesma. Além de frequentes contradições e de observações menos exatas, notamos nela, como sendo um dos maiores defeitos, o fato de ser quasi impossível determinar a espécie a que pertencem as fêmeas. Não menos difícil é a determinação daqueles machos que não apresentam um caraterístico sexual secundário.

Attems, no intuito de reunir todos os Otostigmíneos, até então conhecidos no mundo inteiro, numa só chave sistemática, deu demasiada importância a caracteres morfológicos que êle julgou fixos (sem que tenha visto os tipos ou paratipos de Chamberlin), mas que, de fato, eram sujeitos a largas variações. Resultou daí um sistema bastante artificial e forçado.

Uma prova cabal disso constitue o fato de o autor não ter conseguido em sua chave fazer jus à distribuição geográfica das espécies do seu subgênero *Parotostigmus*. Assim, *O. productus*, da África ocidental, vem a cair ao lado de *O. bürgeri*, da Colômbia; êste ao lado de *O. beckeri*, das Filipinas: o último se aparentaria com *O. gymnopus*, da África nordestina. *O. limbatus*, da América do Sul, formaria com *O. inermipes*, de Camerum. A espécie sulamericana, *O. inermis*, estaria entre *O. fülleborni* e o grupo de *O. troglodytes*, espécies africanas.

Isto não deixa de ter graves inconvenientes, porque justamente o habitat fornece valiosos esclarecimentos para o parentesco natural, a ser considerado em toda a chave sistemática, principalmente quando se trata de animais exclusivamente terrestres de locomoção lenta e de dependência relativamente grande do solo.

A chave sistemática de Attems é fundamentada principalmente nos seguintes caracteres morfológicos:

1.° — Número de artículos antenais e número de artículos basais das antenas desprovidos de pêlos;

2.° — Número e posição dos dentes do coxosternum forcipular;

3.° — Tergito em que principiam os sulcos episcutais e as carenas laterais;

4.° — Existência ou ausência de espinho tarsal no 20.° par de patas.

Ora, pela tabela comparativa da morfologia externa das espécies neotrópicas vê-se claramente que êstes caraterísticos nada ou muito pouco ajudam para a sistematização por serem quasi iguais em todas as espécies.

São êstes os motivos, que induziram Verhoeff a criar três subgêneros novos (Zool. Jahrb. Syst. **70** (1/2). 1937), aos quais *nós* ajuntámos um quarto (1939).

Apesar, porém, dos esforços em dar maior valor às relações geográficas e filogenéticas (no dizer de Verhoeff) e em diminuir oposições que havia nos dois subgêneros de Attems, também esta nova subdivisão em 5 (mais tarde em 6) subgêneros não póde satisfazer plenamente:

1.° — porque os novos subgêneros repousavam apenas sôbre a ausência ou presença de caracteres sexuais secundários nos machos (caracteres êstes, aliás, nem estudados por Verhoeff, como êle próprio confessa), persistindo, portanto, as mesmas dificuldades antigas em determinar

a espécie das fêmeas e daqueles machos que carecem de um caráter sexual secundário (vide tabela comparada);

2.º — porque houve quem interpretasse como caraterísticos suficientes para a criação de uma nova espécie o que, de fato, era apenas uma diferença sexual secundária de machos e fêmeas da mesma espécie (vide a fêmea de *O. demelloi* VERH.);

3.º — porque esta nova subdivisão não obrigou o sistemáta a se certificar, si o indivíduo que estava por ser determinado, era macho ou fêmea. Sem a determinação prévia do sexo, seja pelos próprios órgãos sexuais externos ou então pela verificação de testículos ou de ovário, praticando um corte e suspendendo-se alguns tergitos nos casos em que não ha caracteres sexuais secundários, não é possível, na maioria dos casos, determinar nem o subgênero e ainda muito menos a espécie exata.

Além de tudo isso, Verhoeff não entrou em minúcias morfológicas, permanecendo arbitrário, porisso mesmo, seu novo agrupamento das espécies nos 5 novos subgêneros (os 2 antigos de Attems e mais 3 novos). Êste fato é comprovado pelas espécies *O. tibialis, brunneus* e *goeldii*, cujos machos apresentam todos um caráter sexual secundário nítido e que, apesar disso, continuam a pertencer ao subgênero *Parotostigmus*.

Pela nossa tabela comparada fica comprovado que existem outros caraterísticos morfológicos constantes, além das diferenças sexuais em muitos machos, segundo os quais se podem muito bem subdividir as espécies neotrópicas do antigo subgênero de Attems (*Parotostigmus*) em subgêneros novos.

Êstes caraterísticos foram aproveitados para a seguinte nova chave dos subgêneros (deixamos de lado o subgênero *Ecuadopleurus* com *O.* (*E.*) *insignis* e o grupo *O.* (*E.*) *silvestrii*, do Ecuador):

1 { Prefêmur do último par de patas com espinhos - subg. *Otostigmus* (Velho Mundo)
Prefêmur do último par de patas sempre sem espinhos - 2

2 { Todos os tergitos, inclusive os últimos, lisos, sem rugas laterais, sem quilhas e sem tubérculos - 3
Pelo menos os últimos 3-6 tergitos com 1-3 quilhas longitudinais; áreas laterais destes mesmos tergitos levemente enrugadas; geralmente com estrias longitudinais finamente tuberculadas e com pêlos muito pequenos. Machos sem apêndice no lado interno do prefêmur do último par de patas ou com apêndice curto ou tão longo quanto o próprio prefêmur - subg. *Androtostigmus* (América do Sul).

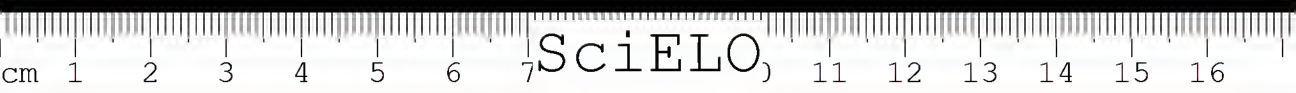
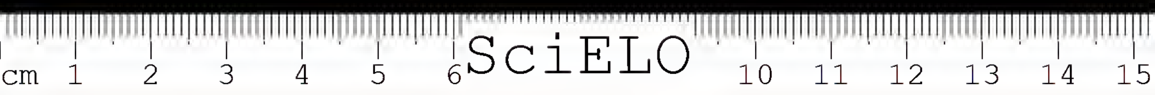

SciELO

TABELA SISTEMÁTICA DOS NOVOS SUBGÊNEROS DE ZONA NEOTRÓPICA

	O. cavalcantii	O. caudatus	O. scabricauda	O. sc. demelloi	O. pococki	O. goeldii	O. clavifer
Comprimento total	36—45 mm	40—50 mm	60—75 mm	60—75 mm	60—70 mm	24 mm	50—55 mm
Colorido	verde azul	verde-verm.	verde-marrom	azul-roxo-rosa	verde-marrom	verde-oliva	verde-oliva
Número de artículos antenais	18	18(16—19)	17—18	17—18	17	—	20
Artículos basais sem pêlos	2 ½	2 2/3	2—2 ½	2—2 ½	2 ½	2 ½	2 ½
Dentes forcipulares	4+4—4+5	4+4—4+5—5	4+4-4+5	4+4-4+5	4+4	4+4	4+4
Tergitos com sulcos episcutais	15—16	13—14	13—15	13—15	16	17—18	16
Carenas laterais	no 21.°	21.°	21.°	21.°	em 16	21.°	21.°
Sulcos nos esternitos	ausentes	2 leves, curt.	ausentes	ausentes	ausentes	ausentes	ausentes
Depressões nos esternitos	sem	sem	3+3	3+3	3+3	sem	sem
2 esporões tarsais	1.°—16.° par	1.°—7.°	1.°—2.°	1.°—2.°	1.°	1.°	1.°—4.°
1 esporão tarsal	17.°—19.°	8.°—19.°	2—3.°—19.°	2—3.°—19.°	2.°—19.°	2.°—19.°	2—5.°—19.°
Esporão tarsal no 20.° par	0—1	0—1	0—1	0—1	0—1	0—1	0—1
Esporão prefemural	0	0—1	0	0	0	0	0
Esporão femural	no 1.° par	1.°	1.°	1.°	1.°	—	1.°
Esporão tibial	1.°—4.°	1.°	1.°	1.°	1.°	—	1.°
Estrutura dos últimos tergitos	lisos	lisos	rugas, quil.	rugas, quil.	rugas, quil.	lisos	lisos
Machos: caracteres sexuais secundários	2	1	1	1	1	1	1
Subgêneros	CONOPL.	DACTYLOT.	ANDROTOSTIGMUS			PAROTOSTIGMUS	
Habitat	Brasil	Brasil	Brasil	Brasil	Guianas bras.	Pará Venezuela	Guiana inglêsa

	O. brunneus	O. pradoi	O. tibialis	O. bürgeri	O. longistigma	O. longipes	O. limbatus
Comprimento total	32 mm	40—45 mm	80 mm	—	37—42 mm	50—55 mm	48—51 mm
Colorido	marrom	marrom verde	verde, mar.	—	amar. verm.	verde, mar.	verde, mar.
Número de artículos antenais	20	16—17	17—18	21	17	17	17
Artículos basais sem pêlos	2	2 ½	2—3	3—4	2—2 ½	2 2/3	2 1/4—4
Dentes forcipulares	4+4	4+4	4+4—4+5	4+4	4+4	4+4	3+4
Tergitos com sulcos episcutais	17	16	13—17	16	14—16	15	18
Carenas laterais	no 21.°	21.°	21.°	em 2—16	21.°	21.°	21.°
Sulcos nos esternitos	ausentes	2 curtos	2 curtos	ausentes	2 curtos	ausentes	2 compl.
Depressões nos esternitos	sem	1 médio	2+2	sem	1	1	2
2 esporões tarsais	1.°—3.°	1.°—3.°	1.°	1.°—17.°	1.°—2.°	1.°—3.°	1.°
1 esporão tarsal	4.°—19.°	4.°—19.°	2.°—19.°	18.°—19.°	3.°—19.°	4.°—19.°	0
Esporão tarsal no 20.° par	1	0—1	0	1	0—1	1	0
Esporão prefemural	0	0	0	0	0	0	0
Esporão femural	—	0	1.°	—	1.°	1.°	1.°
Esporão tibial	—	0	1.°	—	1.°	1.°	1.°
Estrutura dos últimos tergitos	lisos	lisos	lisos	lisos	lisos	rugas, quil.	lisos
Machos: caracteres sexuais secundários	1	1	1	0	0	0	0
Subgêneros	PAROTOSTIGMUS					ANDROTOST.	PAROTOST.
Habitat	Guiana inglêsa	Brasil	Brasil	Colômbia	Brasil	S. Paulo	Argentina Paraguai S. Paulo

	O. sulcatus	O. inermis	O. kretzii	O. amazonae	O. tidius	O. casus	O. dolosus	O. muticus
Comprimento total	35 mm	36—42 mm	33 mm	32 mm	14 mm	57 mm	35 mm	50 mm
Colorido	amar. verm.	verde, am.	verde esc.	verde, mar.	cast. verm.	verde, marrom	verde escuro	castanho
Número de artículos antenais	17	17	17—18	17	17	17	17	17
Artículos basais sem pêlos	2 ½	2 1/2—3	2—4	2	2	2	2 ½	2 ½
Dentes forcipulares	3+3—4+4	4+4—5+5	5+5	4+4	4+4	4+4	4+4	4+4
Tergitos com sulcos episcutais	15	15—17	13—15	17	16—17	16	16	17
Carenas laterais	em 13—16	11—14	21.°	21.°	21.°	21.°	21.°	em 12
Sulcos nos esternitos	com 2+1 med.	2 curtos	2 curtos	2 curtos	2 curtos	2 curtos	2 curtos	2 longos
Depressões nos esternitos	sem	3 lev.	sem	2	2	sem	sem	sem
2 esporões tarsais	1.°—18.°	1.°—4.°(18)	1.°—16.°	1.°—6.°	1.°—18.°	1.°	1.°—2.°	1.°—6.°
1 esporão tarsal	19.°	5.°—19.°	17.°—19.°	7.°—19.°	19.°	2.°—19.°	3.°—19.°	7.°—19.°
Esporão tarsal no 20.° par	1	1	0—1	0	1	0—1	1	0
Esporão prefemural	0	0	0	0	—	—	—	—
Esporão femural	—	—	1.°	1.°	—	—	—	—
Esporão tibial	—	—	1.°—2.°	1.°	—	—	—	—
Estrutura dos últimos tergitos	rugas, quil.	rugas, quil.	lisos	lisos	lisos	rug. quil.	lisos	lisos
Machos: caracteres sexuais secundários	0	0	0	0	0	0	0	0
Subgêneros	ANDROTOSTIGMUS		PAROTOSTIGMUS			ANDROTO.	PAROTOSTIGMUS	
Habitat	Uruguai	Colômbia Venezuela Argentina	Brasil	Amazonas	Amazonas	Mato Grosso	Paraguai	Perú


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15

Machos com apêndice digitiforme no último tergito; fêmeas com bordo posterior do mesmo tergito terminando em ângulo reto ou agudo; esternitos sem depressões e sem sulcos ou com 2 sulcos anteriores quasi imperceptíveis; geralmente 18 artículos antenais; carenas laterais somente no 21.° tergito - 4

3 Último tergito em ambos os sexos com bordo posterior arqueado, sem formar ângulo; machos de algumas espécies com apêndice tibial no último par de patas ou com apêndice no prefêmur do último par de patas; esternitos sem ou com sulcos longitudinais nitidos; com ou sem depressões; geralmente 17 artículos antenais, raras vêzes 18, 20 ou 21. Carenas laterais só no último tergito ou já desde o 5.° - subg. *Parotostigmus* (América do Sul)

Colorido da cabeça e do tronco uniforme, verde-azulado ou verde escuro; sulcos episcutais desde o 5.°-6.° tergito; esternitos sem sulcos; Patas 1-16 com 2 esporões tarsais, 1-3 ou 4 com 1 esporão tibial. Machos com apêndice coxopleural, curvo, e com apêndice digitiforme no último tergito - subgen. *Coxopleurotostigmus* (Brasil).

4 Cabeça e primeiro segmento marrom; tronco verde; sulcos episcutais desde o 7.°-8.° (do 6.° apenas 2 sulcos anteriores curtos); esternitos, às vêzes, com 2 sulcos anteriores muito leves; patas 1-7 com 2 esporões tarsais, apenas o 1.° par com 1 esporão tibial. Machos só com apêndice digitiforme - subg. *Dactylotergitius* (Brasil).

Subgen. *Androtostigmus*

(chave das espécies)

Primeiros 4-18 pares de patas com 2 esporões tarsais; esternitos com sulcos inteiros ou encurtados - 2

1 No máximo os primeiros 3 pares de patas com 2 esporões tarsais; esternitos sem sulcos, apenas em *O.* (*A.*) *casus* (Mato Grosso) com 2 sulcos quasi imperceptíveis e muito encurtados - 3

2 — Esternitos do 8.°-19.° segmento com 2 sulcos longitudinais inteiros e, um pouco atrás, mais 1 sulco mediano; sem cavidades; os primeiros 16-18 pares de patas com 2 esporões tarsais; quilha mediana desde o 15.°-19° tergito - *O. (A.) sulcatus* (Uruguai)

— Esternitos apenas com 2 sulcos curtos, anteriores, e com três leves cavidades; sem sulco mediano; geralmente apenas os primeiros 4-6, raras vêzes 18 pares de patas com dois esporões tarsais; quilha mediana já desde o 5.° ou 7.° tergito - *O. (A.) inermis* (Argentina, Colômbia, Venezuela).

3 — Esternitos com uma grande depressão no centro e 3-6 cavidades; somente o primeiro ou, no máximo, os primeiros 2 pares de patas com 2 esporões tarsais; sulcos episcutais desde o 5.° ou 8.° tergito - 4

— Esternitos sem depressão e apenas com uma cavidade no meio de cada placa. Sulcos episcutais desde o 6.° tergito, existindo já desde o 3.° sulcos encurtados, anteriores - *O. (A.) longipes* (São Paulo)

4 — Somente o primeiro par de patas com 2 esporões tarsais; cabeça e primeiro segmento marrom; os outros tergitos verdes ou azuis, escuros - 5

— Geralmente os dois primeiros pares de patas com 2 esporões tarsais; cabeça e tergitos do mesmo colorido verde marrom ou azul arroxeado - 6

5 — Carenas laterais e quilha mediana desde o 5.° tergito; duas quilhas laterais desde o 7.° tergito; esternitos sem sulcos, mas com 3+3 depressões nos bordos anterior e posterior; machos com apêndice prefemural frágil e curto - *O. (A.) pococki* (Guiana brasileira)

— Carenas laterais somente no 21.° tergito; quilhas já desde o 5.° ou 6.° tergito; esternitos com 2 sulcos longitudinais anteriores, encurtados e, desde o 5.° ou 6.°, com 3+3 depressões; machos sem apêndice prefemural no último par de patas - *O. (A.) casus* (Mato Grosso)

6 Cabeça e tergitos verde marrom; tarsos das patas amarelos ou verdes; esternitos com grande depressão mediana, posterior, na qual se encontram 3 cavidades nitidas ao longo do bordo posterior, existindo ainda 3 cavidades leves no bordo anterior; apêndice prefemural do último par de patas dos machos um pouco mais curto do que o prefêmur ou tão longo quanto êste - *O. (A.) scabricauda* (São Paulo, Santa Catarina, Mato Grosso)

Cabeça e tergitos azul-roxo; patas côr de rosa; cavidades nos esternitos ainda mais acentuados do que em *scabricauda;* apêndice prefemural dos machos geralmente um pouco mais longo do que o prefêmur - *O. (A.) scabricauda demelloi* (habitat idêntico ao da espécie)

Como se vê, deixamos de lado, todos os caraterísticos, sôbre os quais Chamberlin e Attems basearam sua classificação, e que foram reconhecidos como variáveis. São êstes principalmente:

a presença ou ausência de 1 esporão tarsal no 20.° par de patas;

o número dos articulos antenais e dos basais, desprovidos de pêlos;

o número e a posição dos dentes forcipulares;

a presença ou ausência de uma fossa ou elevação nos últimos tergito e esternito.

Colocamos neste subgênero as espécies: *longipes, sulcatus* e *inermis*, apesar de seus machos carecerem de um apêndice no prefêmur do último par de patas, porque vimos que o caraterístico genérico (a rugosidade das zonas laterais dos últimos tergitos, as quilhas, as fileiras de tubérculos finamente espiculados e as cavidades nos esternitos) vale muito mais. O mesmo se verifica a respeito de *O. (A.) casus.*

Aliás, o próprio Verhoeff classifica *O. tibialis* entre as espécies do subgênero *Parotostigmus,* cujos machos, segundo êle, carecem de qualquer apêndice no último segmento, apesar dos machos da aludida espécie apresentarem apêndices tibiais bem acentuados no último par de patas.

O. goeldii e *clavifer,* cujos machos possuem o citado apêndice e que foram situados por Verhoeff no subgênero *Androtostigmus,* serão classificados agora entre as espécies do subgênero *Parotostigmus,* porque não apresentam em absoluto a rugosidade geral (quilhas, tubérculos) dos tergitos, nem depressões ou cavidades nos esternitos.

Subgen. *Parotostigmus*

(chave das espécies)

1
- 20-21 artículos antenais; esternitos sempre sem sulcos e sem cavidades - 2
- 17-18 artículos antenais (raras vêzes 19); esternitos com 2 sulcos longitudinais nítidos, encurtados (anteriores ou posteriores) ou inteiros; com 1-4 cavidades, apenas em *kretzii, dolosus* e *muticus* sem cavidades - 5

2
- 21 artículos antenais; patas 1-17 com 2 esporões tarsais; apêndice coxopleural terminando em duas pontas - *O. (P.) bürgeri* (Colômbia)
- 20 artículos antenais; somente o 1.º ou os primeiros 3-4 pares de patas com 2 esporões tarsais; partes posteriores das coxopleuras redondas, sem pontas - 3

3
- Só o 1.º par de patas com 2 esporões tarsais; desde o 2.º ou 4.º tergito pseudocarenas laterais; machos com 1 pequeno apêndice prefemural no último par de patas - *O. (P.) goeldii* (Pará, Venezuela)
- Os primeiros 3-4 pares de patas com 2 esporões tarsais; sem pseudocarenas; apenas o 21.º tergito com carenas laterais - 4

4
- 1.º-4.º par de patas com 2 esporões tarsais; cabeça e 1.º tergito vermelhos; os outros tergitos verde escuro; esternitos com leves sulcos irregulares ao longo dos bordos anterior e posterior; machos com apêndice prefemural pelo menos tão longo quanto o prefêmur - *O. (P.) clavifer* (Guiana inglêsa)
- 1.º-3.º par de patas com 2 esporões tarsais; todo o tronco, inclusive a cabeça, marrom; parte posterior da placa cefálica com 2 sulcos curtos; machos com apêndice prefemural cilíndrico, que atinge no máximo dois terços do comprimento do prefêmur - *O. (P.) brunneus* (Guiana inglêsa)

5
- Esternitos com 2 sulcos longitudinais inteiros (do bordo anterior ao posterior ou quasi ao posterior) - 6
- Esternitos com 2 sulcos longitudinais curtos, indo do bordo anterior até ao primeiro quarto da placa ou, no máximo, até a primeira metade - 7

6 { Esternitos 1-19 com 2 sulcos longitudinais que vão do bordo anterior ao posterior; na área central duas cavidades; somente o 21.° tergito com carenas laterais; o 1.° par de patas com 1 ou 2 esporões tarsais; 2.° (3.°) ao 20.° sem esporão tarsal algum ou em alguns tarsos um muito pequeno - *O.* (*P.*) *limbatus* (S. Paulo, Argentina, Paraguai)

Esternitos 10-19 com 2 sulcos longitudinais que vão do bordo anterior até ao terço posterior; sem cavidades; carenas laterais desde o 9.° ou 14.° tergito; os primeiros 5-6 pares de patas com 2 esporões tarsais, os seguintes com 1 esporão facilmente visivel - *O.* (*P.*) *muticus* (Perú)

7 { Esternitos sem cavidades - 8
Esternitos pelo menos com 1, geralmente com 2 e, às vêzes, com 4 cavidades - 9

8 { 5+5 dentes forcipulares; sulcos episcutais desde o 6.° ou 8.° tergito; 1.°-16.° par de patas com 2 esporões tarsais - *O.* (*P.*) *kretzii* (S. Paulo, Minas, Mato Grosso)

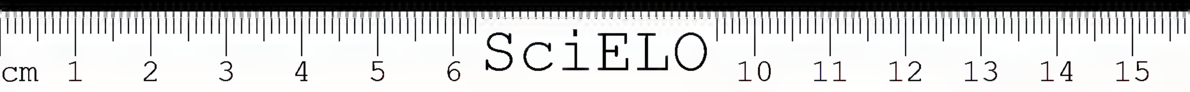
4+4 dentes forcipulares; 2.°-4.° tergito com sulcos episcutais anteriores, do 5.°-20.° sulcos inteiros; 1.° e 2.° par de patas com 1-2 esporões tarsais; 3.°-19.° ou 20.° com 1 esporão tarsal - *O.* (*P.*) *dolosus* (Paraguai)

9 { Esternitos com 2 cavidades oblongas na área central, entre os sulcos; pelo menos os primeiros 6 pares de patas com 2 esporões tarsais - 10

Esternitos com 1 ou 4 cavidades (no último caso 2 centrais e 2 laterais): somente os primeiros 3 pares de patas ou menos com 2 esporões tarsais - 11

10 { 1.°-6.° par de patas com 2 esporões tarsais; 4-5 últimos tergitos com pseudocarenas, 21.° tergito com carenas laterais; as 2 cavidades já existem desde o 3.° ou 4.° esternito - *O.* (*P.*) *amazonae* (Amazonas, Perú)

1.°-18.° par de patas com 2 esporões tarsais; sem pseudocarenas; 21.° tergito com carenas laterais; 2 cavidades só nos últimos 4-5 esternitos - *O.* (*P.*) *tidius* (Amazonas)



11 — Sulcos longitudinais atingindo quasi a metade de cada esternito; apenas com uma cavidade redonda entre os sulcos - 12

— Sulcos longitudinais muito curtos, existentes apenas nos bordos anteriores dos esternitos: duas cavidades na área mediana e mais duas laterais na área posterior; apenas o 1.º par de patas com 2 esporões tarsais; machos com apêndice agudo no lado interno da tíbia do último par de patas -

O. (P.) tibialis (S. Paulo, Paraná, Amazonas)

12 — A cavidade entre os sulcos fica na segunda metade de cada esternito, tornando-se gradativamente menor nos últimos esternitos: os primeiros 3 pares de patas com 2 esporões tarsais; pseudocarenas laterais já desde o 3.º ou 4.º tergito: machos com apêndice agudo no lado interno da tíbia do último par de patas -

O. (P.) pradoi (S. Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul)

— A cavidade entre os sulcos fica no centro de cada esternito, sendo nítida também nos últimos: apenas os primeiros 2 pares de patas com 2 esporões tarsais: pseudocarenas laterais somente desde o 7.º ou 8.º tergito: machos iguais às fêmeas, sem apêndice tibial -

O. (P.) longistigma (S. Paulo, Paraná)

Reunimos neste subgênero todas as espécies neotrópicas, cujos tergitos se apresentam lisos e brilhantes, portanto, sem rugas, sem quilhas fortes e sem tubérculos espiculados.

Vieram a caír neste subgênero 3 espécies, cujos machos estão providos de apêndices no lado interno dos prefêmures do último par de patas (*goeldii, clavifer* e *brunneus*) e mais 2 espécies, aliás sempre consideradas como pertencentes ao subgênero *Parotostigmus*, cujos machos têm um apêndice tibial no último par de patas (*tibialis* e *pradoi*).

Para *goeldii, clavifer, brunneus* e *bürgeri* o número total de artículos antenais constitue um bom caraterístico específico, fazendo jus, ao mesmo tempo, à sua distribuição geográfica.

Outros bons caraterísticos deste subgênero foram encontrados nos 2 esporões tarsais (como se pode depreender da tabela sistemática), no comprimento dos sulcos dos esternitos, na ausência ou presença de depressões e cavidades nos mesmos esternitos e ainda nos sulcos episcutais. O número dos dentes forcipulares, aproveitado por Attems para todas as espécies deste subgênero, foi útil apenas para as espécies *kretzii* e *dolosus*.



As pseudocarenas dos tergitos são valiosas apenas como caraterístico de valor secundário, e isto somente nas espécies *goeldii, amazonae, pradoi* e *longistigma*.

As carenas laterais dos tergitos formam um caraterístico estritamente específico de *muticus*.

Subgen. *Coxopleurotostigmus*

Espécie única: *O. (C.) cavalcantii*, com os caraterísticos do gênero. Tipos e paratipos e mais 39 exemplares, machos e fêmeas, na coleção quilopódica do Instituto Butantan.

Subgen. *Dactylotergitius*

Espécie única: *O. (D.) caudatus* com os caraterísticos do gênero, sendo de notar, entretanto, que o número de artículos antenais varia de 15-19, sendo a média 18, e ainda que já desde o 2.° ou 3.° tergito se notam em muitos casos sulcos episcutais curtos, anteriores, ou posteriores ou então anteriores e posteriores no mesmo tergito, sendo os sulcos completos desde o 7.° ou 9.°.

BIBLIOGRAFIA

Attems, G. — Scolopendromorpha, Tierreich 54.1930.

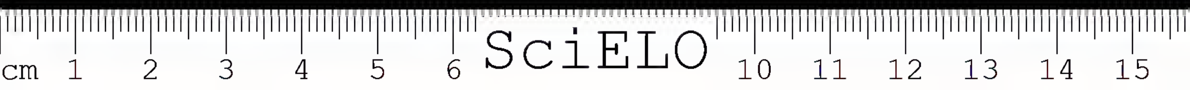
Brölemann, H. — Os Miriápodos do Brasil — Catálogos da Fauna Brasileira — Rev Mus. Paulista 1909.

Bücherl, W. — Os Quilópodos do Brasil — Mem. Inst. Butantan 13:255-275.1939.
— Catálogo dos Quilópodos da zona neotrópica — *ibidem* 15:305-315.1941.

Chamberlin, R. — The Stanford Expedition to Brazil 1911: The Chilopoda of Brazil — Bull. Mus. Harv. 58:170-180.1914.

Verhoeff, C. — Über einige Chilopoden aus Australien und Brasilien — Zool. Jahrb. Syst. 70(1/2).1937.

(Trabalho da Secção de Zoologia Médica do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 27-5-42 e dado à publicidade em fevereiro de 1943).




cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

595.62

DESCRIÇÃO DE UMA NOVA SUBESPÉCIE DO GÊNERO *OTOSTIGMUS* PORAT, SUBGÊNERO *COXOPLEUROTOSTIGMUS* BÜCHERL (*SCOLOPENDROMORPHA, SCOLOPENDRIDAE*)

POR

WOLFGANG BÜCHERL

No presente trabalho descrevemos uma nova subespécie de *Otostigmus cavalcantii* BÜCHERL, do gênero *Otostigmus*, subgênero *Coxopleurotostigmus*, estabelecendo simultaneamente um confronto diferencial com as espécies próximas: *O. cavalcantii* e *O. caudatus* BRÖL.

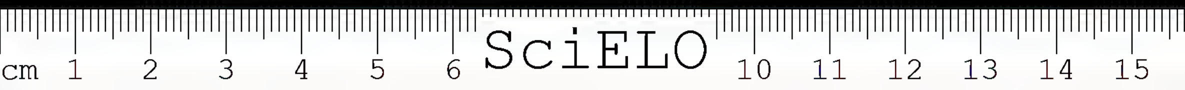
O material, que consta de 44 exemplares, foi colhido pelos senhores Pedro Passarim, de Perdizes, Estado de Santa Catarina, e B. Coelho, de Mogy das Cruzes, Estado de São Paulo.

Otostigmus (*C.*) *cavalcantii perdicensis*, n. subsp.

Medidas:

comprimento total (sem antenas e sem últimas patas) ..	40 — 54 mm
largura do segundo tergito	2,7 — 3,2 mm
" " décimo tergito	3,8 — 4,2 mm
" " vigésimo tergito	2,3 — 2,7 mm
comprimento do último tergito dos machos	1,8 — 2,2 mm
" " apêndice digitiforme dos machos	2,3 — 2,6 mm
" " 18.º par de patas	4,8 — 6,3 mm
" " 19.º par de patas	6,8 — 7,2 mm
" " 20.º par de patas	10,5 — 13,7 mm
" " 21.º par de patas	11,4 — 14,3 mm

Queremos chamar a atenção sôbre a diferença abrupta de comprimento entre os dois últimos pares de patas e as patas precedentes.



Colorido: Todos os tergitos, inclusive a placa cefálica, lisos, brilhantes, de um verde de oliva ou mais côr de cinza; bordos posteriores dos tergitos um tanto enegrecidos; em alguns exemplares o verde apresenta traços fracamente azulados, principalmente na placa cefálica e no primeiro tergito, distinguindo-se nisto a nova subespécie de *caudatus*, em que a cabeça e o primeiro tergito são amarelos ou de côr castanha, com bordos fuliginosos e os tergitos verdes. Esternitos de um amarelo pálido. Antenas roxas com pêlos louros. Patas de um azul claro, principalmente as tíbias e os tarsos.

Todas estas côres, principalmente a roxa e a azul claro, desaparecem já dentro de 2-3 semanas de conservação do animal em alcool a 70 %, apresentando-se, então, de um colorido verde cinza, no lado superior, e amarelo pálido nas patas e esternitos.

Antenas: longas, atingindo o bordo posterior do 4.° tergito; com 18 artículos, oblongos; raras vêzes 17 articulos apenas, ou então num lado 17 e no outro 18 articulos, providos de pêlos louros, ordenados geralmente em fileiras longitudinais.

Dois artículos basais inteiramente sem pêlos; o terceiro, no lado dorsal, na extremidade distal, geralmente com algumas fileiras transversais de pêlos; no lado ventral a área pilosa da extremidade distal é maior, atingindo pelo menos um terço ou mesmo a metade do articulo.

Placa cefálica: lisa, brilhante, apenas com poucos poros, muito leves; sem sulcos ou cavidades.

Tergitos: lisos, brilhantes, com poucos poros; sem pseudocarenas laterais; sulcos episcutais completos (do bordo anterior ao posterior) desde o 7.° ou 9.° tergito até ao 20.°; nos tergitos anteriores, até ao 4.° ou 3.° existem geralmente dois sulcos longitudinais muito curtos, ou no bordo anterior ou no posterior ou em ambos os bordos. 21.° tergito sem sulcos e sem cavidades; com carenas laterais muito nítidas; bordo posterior dos machos fortemente prolongado em forma de um apêndice cilíndrico, digitiforme, mais longo que o próprio tergito (vide medidas). Apêndice com bordos laterais mais ou menos paralelos; na ponta distal, em ambos os lados, um denso feixe de pêlos longos, amarelo-avermelhados. Com aumento cêrca de 200 vêzes vê-se que se trata de pêlos simples, não articulados, com leve destacamento apenas na base, afinando-se progressivamente em direção distal e terminando numa ponta muito aguda (Fig. 2).

Nas fêmeas observa-se a mesma protração do bordo posterior do último tergito que em *cavalcantii* e *caudatus*, com a diferença, porém, de ser esta protração ainda mais acentuada, isto é, forma-se um ângulo reto ou agudo na linha mediana.

2



Quanto aos sulcos episcutais completos deve-se notar ainda que são sempre mais acentuados e mais profundos nos bordos anterior e posterior dos tergitos.

Coxosternum forcipular: com poros pouco numerosos, porém, mais pronunciados do que nos tergitos; sem cavidades. Sulcos das placas dentárias formando um ângulo muito obtuso. 4 + 4 dentes, isolados e aproximadamente do mesmo tamanho, havendo, por baixo dos dentes, em cada placa um leve tubérculo com uma cerda longa.

Esternitos: lisos, brilhantes, com poucas e leves pontuações (muito mais leves do que em *caudatus*); sem cavidades e depressões; com 2 sulcos anteriores, muito curtos, nos esternitos 2 ou 4 até ao 19.° ou 20.°, sendo de notar que, geralmente, são muito leves ou quasi imperceptiveis nos esternitos 2-5 e 18-19 ou 20. Nos esternitos 7-18 ou 9-20 existem, além disto, ainda 2 sulcos no bordo posterior de cada esclerito, ainda mais curtos do que os anteriores, ligeiramente convergentes de trás para diante. (Em *cavalcantii* êstes sulcos ventrais não existem geralmente ou então são muito superficiais e curtos). 21.° esternito com bordos laterais ligeiramente convergentes e com bordo posterior cortado em linha reta. Na linha mediana acentua-se geralmente uma ligeira fossa longitudinal, aliás nem sempre muito nitida.

Coxopleuras: com campo poroso normal. Parte distal protraída, nos machos, num apêndice longo, curvo (como nos machos de *cavalcantii*), sendo normal nas fêmeas (como também nas fêmeas da citada espécie).

Esporões nas patas: No primeiro tarso das 7-9 patas anteriores 2 esporões tarsais (em *cavalcantii* ha 2 esporões nos primeiros 14-16 pares de patas) nos machos e nas fêmeas; nas patas 10-19 um esporão tarsal só; no 20.° par geralmente 1 ou nenhum; 21.° nenhum esporão. Esporão tibial somente no primeiro par de patas ou, no máximo, ainda no segundo (em *cavalcantii* nos primeiros 3-4 pares).

Dimorfismo sexual: machos com segmento postgenital nitido, tão longo quasi quanto o próprio segmento genital; com órgão copulador nitido, triangular e abertura genital em forma de fenda longa, estreita; fêmeas sem segmento postgenital, com abertura genital grande, semi-circular, situada no próprio segmento genital.

Caracteres sexuais secundários: machos com apêndice cilindrico, digitiforme no último tergito e com apêndice longo, curvo, na parte distal das coxopleuras; fêmeas sem êstes dois apêndices; no bordo posterior do último tergito apenas com uma protração triangular.

SciELO

DIAGNOSE DIFERENCIAL DAS ESPÉCIES PRÓXIMAS

(Vide desenhos)

O. cavalcantii perdicensis	*O. cavalcantii*	*O. caudatus*
Mesmo colorido verde de oliva ou verde cinza da placa cefálica, primeiro tergito e todos os outros tergitos.		Tergitos verdes; placa cefálica e 1.° tergito vermelhos ou marrom. Antenas e patas como em *cavalcantii*.
Antenas roxas com pêlos louros; patas de um azul claro, principalmente as tibias e os tarsos.	Antenas e patas amarelo-esverdeadas.	
Sulcos episcutais mais acentuados nos bordos anterior e posterior. Sem depressão longitudinal no meio dos sulcos.	Sulcos não especialmente acentuados nos bordos anterior e posterior.	
	Com depressão no meio.	Sem depressão entre os sulcos.
Machos: com apêndice cilíndrico no último tergito, mais longo do que o próprio tergito e com apêndice coxopleural, longo e curvo.		Apêndice cilíndrico um pouco mais curto do que o último tergito. Sem apêndice coxopleural.
Fêmeas: Sem apêndices no último tergito e na parte distal das coxopleuras.		
Bordo posterior do último tergito fortemente protraido em forma de triângulo reto ou agudo.	Bordo posterior normal ou apenas pouco protraido.	Bordo posterior sempre mais protraido do que em *cavalcantii*, mas menos do que na subsp. nova.
Coxosternum forcipular sem sulco mediano.	Com sulco mediano, curto.	Sem sulco mediano.
Esternitos com raras pontuações muito leves (vide Fig.).		Pontuação rara, mas profunda.
Sulcos curtos anteriores e posteriores nos esternitos (Fig. 1:2 e 3).	Sem sulcos ou apenas anteriores, muito leves e muito curtos (Fig. 1).	
Último esternito com bordo posterior reto e com fossa longitudinal leve (Fig. 1:3).	Bordo arqueado, sem fossa, com depressão triangular (Fig. 1:4).	Bordo reentrante, formando duas saliências angulosas nos lados (Fig. 1:5).
Os 2 últimos pares de patas excedem no dobro o comprimento das patas anteriores.		Apenas um pouco mais longas do que as anteriores.
2 esporões tarsais nos primeiros 7-9 pares de patas. 1.° e 2.° par com 1 esporão tibial.	2 esporões em 14-16 patas. 3-4 pares de patas com 1 esporão tibial.	2 esporões em 5-7 pares de patas. Só o 1.° par com 1 esporão tibial.

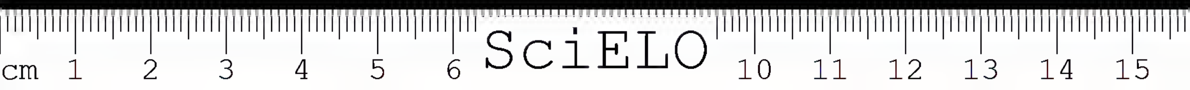
Holotipo (macho) e *alotipo* (fêmea) na coleção quilopódica do Instituto Butantan, No. 303.

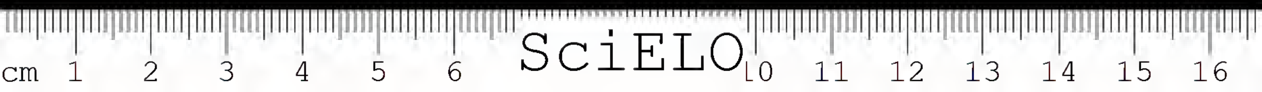
Local.-tipo: Perdizes (vide *nomen*), Santa Catarina, Brasil.

Paratipos (adultos): 17 machos e 19 fêmeas;

(adolescent.): 2 machos e 4 fêmeas, na mesma coleção, sendo coletados em parte na local.-tipo e em parte perto de Mogí das Cruzes, Estado de São Paulo.

(Trabalho da Seção de Zoologia Médica do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 15 de junho de 1942 e dado à publicidade em fevereiro de 1943).




cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
Vol. XVI — 1942

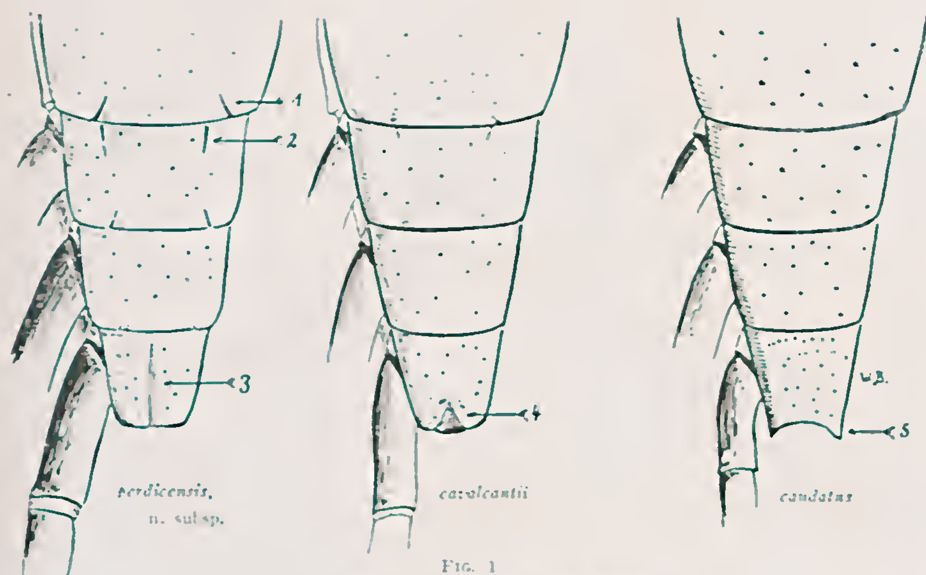


FIG. 1

Últimos esternitos das 3 esp. comparadas:

No. 1: sulcos posteriores
No. 2: sulcos anteriores
No. 3: fossa longitudinal
No. 4: depressão triangular
No. 5: cantos laterais do bordo posterior

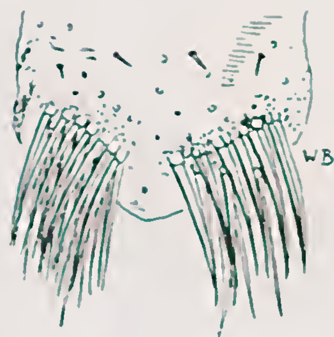


FIG. 2

O. (*C.*) *caudatus perdicensis*, n. subsp.

Os 2 feixes de pêlos na ponta ou apêndice digitiforme. (cerca de 200 vezes aum.).


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

591.69:616.9681

TRANSMISSÃO DA MALÁRIA HUMANA POR ANOFELINOS DA SÉRIE *TARSIMACULATUS*

J. A. B. DA FONSECA & FLAVIO DA FONSECA

A verificação da sensibilidade de anofelinas às diversas espécies de plasmódeos do homem, embora constituindo um dos mais importantes e dos mais atraentes capítulos da epidemiologia e da parasitologia da plasmodeose, com imediata e produtiva aplicação à profilaxia, é problema só raras vêzes abordado pelos especializados. A razão de ser da desproporção observada entre a grande importância das pesquisas sôbre êste assunto e o seu pequeno número repousa sem dúvida no fato de encobrir a aparente simplicidade da sua realização dificuldades técnicas não raro intransponíveis, entre as quais avultam a da manutenção das anofelinas em cativeiro em bôas condições de vitalidade, por um prazo suficiente e em número elevado, a da existência simultânea de bons gametóforos durante todo o tempo que durar a experimentação e a da possibilidade da pronta determinação sistemática de todos os espécimes infetados.

A bibliografia com contribuição positiva e original sôbre pesquisas dessa natureza realizadas no Brasil inclue cêrca de 54 verificações positivas, das quais 41 feitas por brasileiros. O número de espécies de anofelinas em que, no Brasil, foi obtida prova de sensibilidade a plasmódeos do homem eleva-se a 12, cabendo para todas a propriedade da observação a autores nacionais, excetuados os casos de *A. (Nyss.) oswaldoi* e *A. (Kertezsia) anoplus.* (Vejam-se Quadros I e II).

Embora as 54 verificações até hoje realizadas no Brasil forneçam uma série considerável de informações, as quais, somadas aos dados obtidos pela epidemiologia, constituem já um precioso acervo de conhecimentos sôbre o papel representado por várias das espécies estudadas na transmissão da malária, a inspeção dos quadros em anexo demonstra que perduram ainda muitas lacunas cujo preenchimento seria altamente desejável. Verifica-se, por exemplo, que nas provas de infeção experimental só talvez em cinco espécies foi possível obter o ciclo completo de plasmódeo de espécie conhecida, até infeção de glândulas salivares, em anofelina sôbre cuja espécie não pairam dúvidas de sistemática: *A. (N.) oswaldoi*

com *Pl. falciparum* (9); *A.* (*N.*) *albitarsis* com *Pl. vivax* (3, 4 e 5); *A.* (*N.*) *strodei* com *Pl. vivax* (13 e 5); *A.* (*K.*) *cruzi* com *Pl. vivax* (15) e *A. eiseni* com *Pl. falciparum* (17). Outra falha acentuada é a que diz respeito às verificações com *Pl. malariae*, de que a literatura apenas consigna as duas experiências de Godoy e Pinto (2) em Campos, Estado do Rio, com *albitarsis* e com *triannulatus*, não havendo outras experiências positivas com anofelinas da fauna brasileira. Nota-se que com *Pl. falciparum* só foram até hoje obtidas duas vêzes infeções experimentais, de anofelinas que ocorram no Brasil, que chegassem à fase final de esporozoito.

Reconhecendo desde cedo a importância do significado dêste problema para o Brasil, a escola de Manguinhos, representada por Neiva, Chagas, Gomes de Faria e Ruy Ladislao, em trabalho de pioneiros, realizado no Xerem (Estado do Rio), comunicava já em 1909 (1) os primeiros resultados de infeções experimentais, tendo assinalado a sensibilidade de *Cellia argyrotarsis* (*albitarsis?*), *Cellia albimana* (*tarsimaculatus, evansi, triannulatus?*), *Cycloleptcron intermedius* [*Anopheles* (*Arribalzagaia*) *intermedius*] e *Arribalzagaia pseudo-maculipes* [*A.* (*Arrib.*) *maculipes*]. Após longos anos de intervalo, em 1922, seguiram-se verificações da mesma escola, representada agora por Godoy e Pinto (2) observando em Campos, Estado do Rio, a infeção experimental de *Celia brasiliensis* [*A.* (*N.*) *albitarsis*] pelo *Pl. falciparum*, bem como a infeção natural da mesma espécie por um plasmódeo indeterminado, e a infeção experimental de *Cellia albimana* [*A.* (*N.*) *triannulatus*] pelo *Pl. malariae*.

Dessa data em diante (Quadros I e II) os trabalhos realizados no Brasil por Boyd (1923), Davis (1925), Gomes de Faria (1926), Lobo (1930), Godoy, Lobo e Cruz Filho (1930), Shannon (1931), Kumm (1932), Davis e Kumm (1932), Galvão e Lane (1937/38), R. Corrêa (1939/40), Corrêa e Ramos (1941), Lucena (1941), Coutinho (1942), Fonseca e Corrêa (1941), Fonseca e Unti (1941) Galvão e Grieco (1941), Fonseca, Covelli e Zwinger (1941), J. A. B. Fonseca (1942) e Freitas (1942), conseguiram elevar a cêrca de doze o número de espécies de anofelinas brasileiras em que os plasmódeos são passíveis de evolução pelo menos até a fase de oocisto, montando a cêrca de seis o número de espécies em que a infeção até a fase final de esporozoito foi observada.

Tais investigações que conseguiram demonstrar em parte o papel representado na transmissão da plasmodeose por mais de um terço das espécies assinaladas no Brasil foram, infelizmente, prejudicadas no decurso de evolução dos conhecimentos sôbre a sistemática das anofelinas, a qual veiu demonstrar que algumas das espécies estudadas eram confundidas com outras. E' o que se verifica, por exemplo, entre o antigo *argyritarsis* e *albitarsis*, entre *albitarsis* e *darlingi*, entre *albimana* de um lado e *strodei* e *triannulatus* de outro. Si em

Quadro I

INFEÇÕES EXPERIMENTAIS OBTIDAS COM ESPÉCIES DE ANOFELINAS REPRESENTADAS NA FAUNA BRASILEIRA

ESPÉCIE		No. de exemplares experimentados	Espécie de plasmódeo	POSITIVOS			Data da experimentação	LOCALIDADE	AUTOR
Denominação original	*Correspondência atual*			*Total*	*Oocistos*	*Esporozóitos*			
Cellia argyrotarsis	*A. (N.) albitarsis*		*P. vivax*		+			Xerem, Estado do Rio	Ladislao, R. (1)
Cellia argyrotarsis	*A. (N.) albitarsis*		*P. falciparum*		+			Xerem, Estado do Rio	Gomes de Faria e Ladislao, R. (1)
Cellia brasiliensis (*)	*A. (N.) albitarsis*		*P. falciparum*		+		1922	Campos, Estado do Rio	Godoy, A. e Pinto, C. (2)
Cellia brasiliensis (*)	*A. (N.) albitarsis*		*P. malariae*				1922	Campos, Estado do Rio	Godoy, A. e Pinto, C. (2)
Cellia brasiliensis	*A. (N.) albitarsis*		*P. vivax*				1922	Campos, Estado do Rio	Godoy, A. e Pinto, C. (2)
Anopheles (N.) albitarsis	*A. (N.) albitarsis*	8	*P. vivax*	4	4	1	1937	São Paulo, Est. de São Paulo	Galvão, A. L. A. e Lane, J. (3)
Anopheles albitarsis	*A. (N.) albitarsis*	5	*P. vivax*	1	+	+	1941	São Paulo, Est. de São Paulo	Grieco, S. J. (4)
Anopheles (N.) albitarsis	*A. (N.) albitarsis*	252	*P. vivax*	28	25	12	1941	Guarujá e Guaratinguetá, Est. de S. Paulo	Fonseca, J. A. B. e Unti, O. (5)
Anopheles argyritarsis	*A. (N.) argyritarsis?*	27	*P. vivax*					Jujuy, Argentina	Patterson (6)
Anopheles argyritarsis	*A. (N.) argyritarsis*		*P. falciparum*	6	6		março, 1932	Grenada, Indias Ocidentais	Earle, W. C. (7)
Cellia albimana	*A. (N.) strodei* .... *A. (N.) triannulatus?* ...... *A. (N.) tarsimaculatus?*		*P. falciparum*		+			Xerem, Estado do Rio	Ladislao, R. (1)
Cellia albimana	*A. (N.) strodei* .... *A. (N.) triannulatus?* ...... *A. (N.) tarsimaculatus*		*P. vivax*		+			Xerem, Estado do Rio	Chagas, C. e Ladislao, R. (1)
A. tarsimaculatus	*A. (N.) tarsimaculatus*	5	*P. falciparum*	5	3			Panamá	Darling, S. T. (8)
A. tarsimaculatus	*A. (N.) tarsimaculatus*		*P. vivax*			1	1930	Estrela, Estado do Rio	Lobo (1)
A. (N.) oswaldoi	*A. (N.) oswaldoi*	67	*P. falciparum*	1	1		1941	Itaipú, Estado do Rio	Freitas, G. (9)
A. (N.) oswaldoi ayrosai	*A. (N.) oswaldoi ayrosai*	34	*P. vivax*	4	3	2	1941	Guarujá e Guaratinguetá, Est. de S. Paulo	Fonseca, J. A. B. e Unti, O. (5)
A. (N.) rondoni	*A. (N.) rondoni*		?				1925?	Jujuy, Argentina	Davis, N. C. (10)
Cellia albimana	*A. (N.) triannulatus* (**)		*P. malariae*		+		1922	Campos, Estado do Rio	Godoy, A. e Pinto, C. (2)
Anopheles (A.) tarsimaculatus	*A. (N.) triannulatus*		?					Paramaribo, Guiana Holandesa	Bonne e Bonne Wepster (11)
Anopheles bachmani	*A. (N.) triannulatus*	18	*P. vivax*	6	+	+		Panamá	Rozeboon, L. E. (12)
Anopheles bachmani	*A. (N.) triannulatus*	13	*P. falciparum*	2	+		1935	Panamá	Rozeboon, L. E. (12)
Anopheles strodei	*A. (N.) strodei*	3	*P. vivax*	1	+		1937	São Paulo, Est. de São Paulo	Galvão, A. L. A. e Lane, J. (3)
A. strodei	*A. (N.) strodei*	19	*P. vivax*		+	+	1938	São Paulo, Est. de São Paulo	Galvão, A. L. A. (13)
A. (N.) strodei	*A. (N.) strodei*		*P. vivax*	4	4	3	1941	Guarujá e Guaratinguetá, Est. de S. Paulo	Fonseca, J. A. B. e Unti, O. (5)
Cyclolepteron intermedium ...	*A. (Arrib.) intermedius*		*P. falciparum*		+			Xerem, Estado do Rio	Neiva, A. e Ladislao, R. (1)
Arribalzagaia pseudomaculipes .	*A. (Arrib.) maculipes*		*P. falciparum*		+		jan. 1925	Xerem, Estado do Rio	Neiva, A. e Ladislao, R. (1)
Anopheles bellator	*A. (K.) an[illegible]lus*	150	*P. vivax*	1	1		1941	Angra dos Reis, Est. do Rio	Davis, N. C. (14)
Anopheles (Kerteszia) bellator	*A. (K.) bellator*							Trinidad	Rozeboon, L. E. e Laird, R. L. (37)
Anopheles (Kerteszia) cruzi .	*A. (K.) cruzi*	29	*P. vivax*	2	1	1	dez. 1940	Guarujá, Estado de São Paulo	Fonseca, Fl. da e Corrêa R. R. (15)
Anopheles eiseni	*A. (A.) eiseni*	1	*P. vivax*	1	1		1936	Panamá	Simons, J. S. (16)
A. (Anopheles) eiseni	*A. (A.) eiseni*	31	*P. falciparum*	5	5	1	1940/1941	Guarujá, Estado de São Paulo	Fonseca, J. A. B. (17)

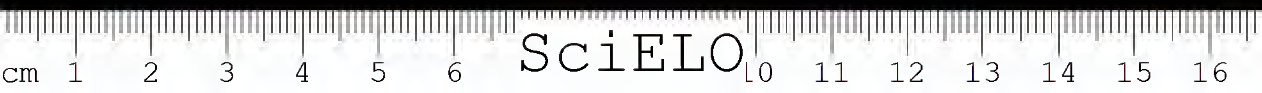
(*) No trabalho original de Godoy e Pinto não se encontram dados sôbre estas duas infeções experimentais que são citadas por Pinto em 1930 (24) e 1939 (52).
(**) Segundo Cesar Pinto.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

INFEÇÃO NATURAL VERIFICADA EM ESPÉCIES DE ANOFELINAS REPRESENTADAS NA FAUNA BRASILEIRA

ESPÉCIE		No. de exemplares examinados	POSITIVOS			Data da verificação	LOCALIDADE	AUTOR
Denominação original	*Correspondência atual*		*Total*	*Oocistos*	*Esporozóitos*			
Anopheles (Cellia) argyritarsis	*A. (N.) albitarsis?*					1904 ou 1905	Est. do Rio ou Minas Gerais	Chagas, C. (18)
Anopheles (Cellia) argyritarsis	*A. (N.) argyritarsis*		1	+			Panamá	Darling, S. T. (8)
Cellia argyritarsis	*A. (N.) argyritarsis?*			+	+		Sta. Lucia, Indias Holandesas	Nicholls, L. (19)
Anopheles argyritarsis	*A. (N.) albitarsis?*			8%	1%		Est. do Rio	Souza Pinto, G. de (20)
Anopheles (Cellia) argyritarsis	*A. (N.) albitarsis?* *A. (N.) darlingi?* *A. (N.) argyritarsis?*	209		+	+		Porto das Caixas Itambí, Est. do Rio	Boyd, M. F. (18)
Anopheles (Cellia) argyritarsis	*A. (N.) albitarsis* *A. (N.) darlingi* *A. (N.) argyritarsis*	276	10	10		abril-maio 1924	Sant'Ana, Est. do Rio	Davis, N. C. (18)
Anopheles (Anopheles) argyritarsis	*A. (N.) argyritarsis*						Surinam, Guiana Holandesa	Bonne e Bonne Wepster (11)
Cellia brasiliensis	*A. (N.) albitarsis*	59	1		1	1922	Campos, Estado do Rio	Godoy, A. e Pinto, C. (2)
Anopheles (Cellia) brasiliensis	*A. (N.) albitarsis*	139	6	6		março-abril 1923	Sant'Ana, Porto das Caixas, Itaubi, Est. do Rio	Boyd, M. F. (18)
Anopheles albitarsis	*A. (N.) albitarsis* *A. (N.) darlingi* (seg. Kumm)	200	1		1	maio — 1930	Estrela, Est. do Rio	Godoy, H., Lobo, A. e Cruz F.º, O.
Anopheles albitarsis	*A. (N.) albitarsis*	240	14	14			S. Salvador, Baía	Kumm, H. H. W. (22)
Anopheles (Nyssorhynchus) albitarsis	*A. (N.) albitarsis*	13	1	1		1940	Barra-Tijuca, Est. do Rio	Freitas, G. e Castro, O (9)
Anopheles (Nyssorhynchus) albitarsis	*A. (N.) albitarsis*	150	1	1		1941	Distrito Federal	Coutinho, J. C. (23)
Anopheles albitarsis	*A. (N.) darlingi*	169	1	1		abril — 1926	Lussanvira, Ilha Seca, Est. S. Paulo	Gomes de Faria (24)
Anopheles (Anopheles) darlingi	*A. (N.) darlingi*	144	12	11	4	dez. 1930 — jan. 1931	Maracaí, Venezuela	Benarroch, E. I. (25)
Anopheles darlingi	*A. (N.) darlingi*	240	69	66	16	fev. — 1931	França, Est. da Baía	Davis, N. C. e Kumm, H. H. W. (27)
Anopheles darlingi	*A. (N.) darlingi*	200	44	44	9	abril — 1931	Belém, Pará	Davis, N. C. (26)
Anopheles darlingi	*A. (N.) darlingi*	10	3	3		1931	Itapira, Baía	Kumm, H. H. W. (22)
Anopheles darlingi	*A. (N.) darlingi*	56		5	1	março-junho 1931	Porto Velho, Amazonas	Shannon, R. C. (28)
Anopheles (Nyss.) darlingi	*A. (N.) darlingi*	37	3	+		jan. — 1940	Porto Feliz, Est. S. Paulo	Corrêa, R. R. (29)
Anopheles (N.) darlingi	*A. (N.) darlingi*	118	7	7	2	junho — 1941	Reprêsa Rio Grande, Est. S. Paulo	Galvão, A. L. A. e Grieco, S. J. (30)
	A. (N.) darlingi							Fonseca, Fl. da, Covelli e Zwingler (31)
Anopheles (N.) darlingi	*A. (N.) darlingi*							
Anopheles (Nyss.) darlingi	*A. (N.) darlingi*	33	2	2		1941	Porto Taquari, Est. São Paulo	Corrêa, R. R. e Ramos, A. S. (32)
Anopheles (Cellia) tarsimaculatus	*A. (N.) tarsimaculatus*					1904 ou 1905	Est. do Rio ou M. Gerais	Chagas, C. (18)
Cellia albimana	*A. (N.) tarsimaculatus*			+	+	1912	Sta. Lucia, Indias Holandesas	Nicholls, L. (19)
Cellia tarsimaculatus	*A. (N.) tarsimaculatus?* *A. (N.) strodei?* *A. (N.) triannulatus?*	143	2	1	1	março-abril 1923	Magé, Est. do Rio	Boyd, M. F. (18)
Anopheles (Cellia) oswaldoi	*A. (N.) oswaldoi*	13	1	1		abril — 1926	Magé, Est. do Rio	Boyd, M. F. (18)
Anopheles (Nyss.) oswaldoi	*A. (N.) oswaldoi metcalfi*	11	5	5		1940	Lontesinha, Pernambuco	Lucena, D. T. (33)
Anopheles (Nyss.) oswaldoi	*A. (N.) oswaldoi*	91	1		1	1941	Itaipú, Est. do Rio	Freitas, G. (9)
Anopheles (Nyss.) oswaldai	*A. (N.) oswaldoi*	12						
Anopheles (Nyss.) oswaldoi metcalfi	*A. (N.) oswaldoi metcalfi*	24	2	2		1941	Taquari, Est. de S. Paulo	Corrêa, R. R. e Ramos, A. S. (32)
						1941	Barra da Tijuca, Distr. Federal	Freitas, G. e Castro, O. (9)
Anopheles (Nyss.) oswaldoi metcalfi	*A. (N.) oswaldoi metcalfi*	307	9	9	1	1941	Distrito Federal	Coutinho, J. C. (23)
Cellia albimana	*A. (N.) triannulatus*		1	+		1922	Campos, Est. do Rio	Godoy, A. e Pinto, C. (2)
Anopheles (Nyss.) strodei	*A. (N.) strodei*	163	2	2(*)			Marilia, Est. de S. Paulo	Corrêa, R. R. (34)
	A. (K.) cruzi	12	1	1		1904	Paraná	Galli-Valerio (35)
Anopheles (Kerteszia) bellator	*A. (K.) bellator*	398	1	1		1941	Trinidad	Rozeboon, L. E., Fox, L. e Laird, R. L. (36)
Anopheles (Kerteszia) bellator	*A. (K.) bellator*	725	3	2	1	1942	Trinidad	Rozeboon, L. E. e Laird, R. L. (37)
Anopheles (Myzomya) gambiae	*A. (Myzom.) gambiae*	172	108	102	52	maio — 1930	Natal, R. Grande do Norte	Davis, N. C. (26)
Anopheles gambiae	*A. (Myzom.) gambiae*	397		71,5%	28,2%	1931-1932	Est. R. Grande do Norte	Pinto, G. de Souza (38)

(*) Oocistos maduros, com esporozóitos visíveis em um dos exemplares.


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16

alguns casos ainda é possível fazer a revisão da sistemática e revalidar as experiências, como sucede à verificação de Gomes de Faria em Lussanvira (1926), em que, segundo Galvão e Lane (1937) e Cesar Pinto (1939) a espécie em causa é mais provavelmente *darlingi* e não *albitarsis* como figura na citação original, em outras experiências, entretanto, a confusão ainda perdura, tal como sucede às verificações de Boyd, Davis, Chagas e Ruy Ladislao com *argyritarsis* e com *albimana*.

As alterações ultimamente sobrevindas na sistemática dos *Nyssorhynchus* da série *tarsimaculatus*, na qual os conservadores apenas reconhecem a espécie *A.* (*Nyss.*) *tarsimaculatus* Goeldi, 1905, ou, no máximo, esta espécie e a subespécie *A.* (*Nyss.*) *tarsimaculatus oswaldoi* (Peryassú, 1932), redundaram na revalidação da espécie *oswaldoi* sob o nome de *A.* (*Nyss.*) *oswaldoi* (Peryassú, 1922) (= *Cellia oswaldoi* Peryassú, 1922) que volta a coexistir ao lado de *A.* (*Nyss.*) *tarsimaculatus* Goeldi, 1905, hoje igual a *A.* (*N.*) *emilianus* Komp, 1941 (39). A espécie *oswaldoi*, por sua vez, foi desdobrada nas subespécies: *A.* (*N.*) *oswaldoi* [= *A.* (*N.*) *tarsimaculatus oswaldoi* dos A.A.], *A.* (*N.*) *oswaldoi metcalfi* (40) e *A.* (*N.*) *oswaldoi noroestensis*, *A.* (*N.*) *oswaldoi guarujaensis* (41) e *A.* (*N.*) *oswaldoi ayrosai* (42) [= *A.* (*N.*) *tarsimaculatus* dos A. A.]

Confirmadas tais alterações, na discussão de cujo mérito não entramos, veem elas, somadas à possibilidade da confusão pelos autores antigos da espécie *tarsimaculatus* dos A.A. com as espécies *strodei* (= *evansi*) e *triannulatus* (= *bachmanni*), reduzir por tal forma os nossos conhecimentos sôbre o papel representado pelas anofelinas da série *tarsimaculatus* na transmissão da malária humana que uma revisão dos trabalhos antigos à luz do conceito moderno se torna altamente desejável, mormente por se tratar de espécies muito disseminadas no Brasil.

Reconhecendo esta necessidade e aliando-a ao desejo de contribuir para o esclarecimento do problema da transmissão da malária na Vila do Guarujá, localidade balneária próxima da cidade de Santos e muito frequentada durante o rigor do verão e do inverno, aproveitamos a facilidade proporcionada pela abundância das subespécies *guarujaensis* e *oswaldoi* em Guarujá, onde foi executado o presente trabalho, para proceder a investigações sôbre o comportamento experimental destas subespécies em relação às espécies de plasmódeos ali encontrados.

MATERIAL

Anofelinas — Todos os exemplares utilizados no presente trabalho provieram de culturas e capturas feitas pelas Seções de Ecologia e de Entomologia de

Serviço de Profilaxia da Malária, a cujos chefes, dr. A. Carvalho Franco e sr. Alberto S. Ramos, muito agradecemos o auxílio prestado.

Fêmeas fecundadas capturadas em Guarujá eram conservadas isoladas em vidros entomológicos até terminação das posturas; os ovos, colhidos diariamente, depois de examinados para determinação da subespécie, eram postos e eclodir segundo a técnica de Boyd e Cain (43) e as larvas criadas até o nascimento dos adultos. As fêmeas virgens assim obtidas eram conservadas em jejum por 24 a 72 horas, quando então se as alimentava em gametóforos. A alimentação posterior era feita em cobaias, a intervalos variáveis, só esporadicamente, tendo algumas recebido como alimento água açucarada.

Os adultos utilizados pertenciam todas às subespécies *A.* (*Nyss.*) *oswaldoi oswaldoi* Galvão & Lane, 1938 (2) [= *A.* (*Nyss.*) *tarsimaculatus oswaldoi* dos A.A. = *Cellia oswaldoi* Peryassú, 1922] (Microfoto 1) e *A.* (*Nyss.*) *oswaldoi guarujaensis* Ramos (no prélo) [*A.* (*Nyss.*) *tarsimaculatus* dos A.A. (Microfoto 2 e 3) determinados pela morfologia dos ovos e pelos caracteres de larvas e adultos.

Gametóforos utilizados — Os doentes que serviram à infeção eram todos moradores da Ilha de Santo Amaro, onde se encontra a vila balneária do Guarujá, internados na Enfermaria da Séde do Serviço de Profilaxia da Malária, em Guarujá, com exceção de um único (J. V. S.), que viera à consulta do ambulatório.

TÉCNICA

As fêmeas em experimentação eram colocadas em vidros entomológicos de 9 × 3 cm forrados por delgada camada de algodão hidrófilo umedecido, coberta por folha de papel de filtro, fechados por gaze e em seguida rotulados e numerados em série de acôrdo com o lote.

A alimentação infetante era tentada, fazendo a aplicação do bocal por gaze ao antebraço dos doentes, esperando-se que o mosquito sugasse até saciedade ou deixando escoar lapso de tempo nunca superior a meia hora, findo o qual o mosquito era descartado quando recusava picar.

Verificou-se que a subespécie *guarujaensis* sugava sempre com muito maior avidez do que *oswaldoi*.

Os vidros contendo os mosquitos alimentados eram conservados em ambiente com grau de umidade elevado artificialmente por meio de revestimento com camada de areia úmida, tendo a temperatura ambiente variado entre os limites extremos indicados abaixo.

A temperatura observada no decurso da experimentação foi a seguinte:

Ano	*Mês*	*Máximo*	*Mínimo*
1940	junho	25°	18°
1940	julho	25°	16°
1940	agosto	28°	19°
1940	setembro	25°	19°
1940	outubro	25°	19°
1940	novembro	29°	20°
1940	dezembro	33°	23°
1941	janeiro	30°	24°

No dia da picada praticava-se a contagem dos gametocitos do sangue periférico dos doentes, segundo a técnica de Dreyer modificada por Sinton (44) ao mesmo tempo que era feito esfregaço onde se efetuava a contagem em relação ao número de leucocitos e ao sexo dos gametocitos, o que possibilitará comparação com resultados baseados só nesta última técnica. A comparação dos resultados obtidos pelas duas técnicas não pôde ser levada a efeito por não ter sido praticada ao mesmo tempo a contagem global de leucocitos.

A pesquisa de exflagelação dos microgametocitos, praticada sistematicamente no início da experimentação, foi em seguida abandonada por ter sido verificado que também em casos em que esta prova era negativa era possivel obter infeção de anofelinas.

A disseção dos mosquitos experimentados era praticada toda vez que o exame diário matinal demonstrava a existência de exemplares mortos ou de vitalidade reduzida e quando se julgava o prazo decorrido suficientemente para que o ciclo dos plasmódeos se tivesse completado. A operação da disseção do intestino médio e das glândulas salivares fazia-se segundo as técnicas habituais de tração dos últimos segmentos abdominais para o intestino e da cabeça para os glândulas, fazendo-se, além do exame a fresco, preparações do intestino segundo a técnica indicada por Neri (45) e esfregaços das glândulas infetadas.

EXPERIMENTAÇÃO E DISCUSSÃO

Após algumas experiências preliminares para acerto das técnicas de infeção, conservação dos exemplares infetados, etc., foi dado início à experimentação em princípios de junho de 1940, prolongando-se esta até fevereiro de 1941.



I — Experiências com *A.* (*N.*) *oswaldoi guarujaensis* e *Pl. vivax*.
(Quadro III).

Foram utilizados 14 lotes, num total de 56 anofelinas, das quais 26 se infetaram.

Dêsse total de 56 mosquitos, 19 foram experimentados no período de junho-outubro e os demais 37 exemplares pertenciam ao período de novembro-fevereiro. No primeiro dêsses períodos foram obtidas 12 infeções, representando uma porcentagem de 63,1% de mosquitos infetados. No segundo período, 14 dos 37 mosquitos experimentados estavam infetados, dando assim uma porcentagem de 37,8% de infeção.

O exame do Quadro III demonstra que no lote 34 composto de 8 mosquitos alimentados em gametóforo com 450 gametocitos por mm^3 ou 4 ♂♂ e 16 ♀♀ por 100 leucocitos houve 4 infetados.

O lote 44 constou de dois mosquitos apenas, ambos mortos no 10.° dia da infeção, mas ambos infetados, encontrando-se a explicação desta elevada percentagem, muito provavelmente, na circunstância de ser extraordinariamente elevado a número de gametocitos apresentado pelo doente, 3.800 por mm^3, sendo igualmente ótima proporção de 23 ♂♂ e 23 ♀♀ por 100 leucocitos. E' de notar que o doente apresentava infeção mista, mas no dia da alimentação dos mosquitos o número de formas sexuadas de *falciparum* era desprezível, não tendo sido encontradas durante a contagem. Aliás tais alternativas de predominância de uma das espécies em detrimento da outra, em infeções mistas estão longe de ser excepcionais, tendo sido estudadas experimentalmente por Boyd e Kitchen (46). Neste lote o prazo não foi manifestamente suficiente para permitir evolução até a fase infetante.

Lote 39, com 8 exemplares. Com exceção do exemplar 5, que apenas teve uma refeição infetante e apresentou esporozoitos nas glândulas salivares ao ser sacrificado ao cabo de 34 dias, os restantes receberam duas refeições. Os exemplares 1 e 2 tiveram certamente infeção devida à 1.ª refeição, dado o lapso de tempo decorrido entre a 2.ª refeição e o encontro de oocistos; o de No. 3, que apresentou infeção das glândulas salivares, também se deve ter infetado na 1.ª refeição, pois o intervalo entre a 2.ª e a disseção não foi suficiente para o percurso do ciclo completo. Somente com os exemplares de No. 6 e 8 pode haver dúvida si a refeição infetante foi a 1.ª ou a 2.ª, pois só foram sacrificados ao cabo de 29 dias depois da 2.ª refeição. E' de notar que os exemplares Nos. 4 e 7 dêste lote não se infetaram apesar das duas refeições, o que sugere a possibilidade de maior resistência de alguns exemplares. Houve, portanto, neste lote 6 infeções em 8 mosquitos experimentados, apesar do número de gametocitos da 1.ª refeição ser de 300 apenas por mm^3, com uma relação para 100 leucocitos de 7.8 ♂♂ e 25 ♀♀.

QUADRO III

ANOPHELES (NYSS.) OSWALDOI GUARUJAENSIS INFETADOS COM *PL. VIVAX*

No. do lote	No. do exemplar	Gametocitos por mm³	RELAÇÃO DE GAMETOCITOS PARA 100 LEUCOCITOS		Data da refeição infetante	Data da disseção	Incubação extrinseca	Doente	RESULTADO	
			macrogametocitos	microgametocitos					Oocistos	Esporozóitos
34	1	450	16	4	6.6.40	10.6.40	4	J. O.	—	—
”	2	”	”	”	6.6.40	21.6.40	15	”	—	—
”	3	”	”	”	6.6.40	21.6.40	15	”	+	—
”	4	”	”	”	6.6.40	21.6.40	15	”	+	—
”	5	”	”	”	6.6.40	21.6.40	15	”	—	—
”	6	”	”	”	6.6.40	25.6.40	19	”	+	—
”	7	”	”	”	6.6.40	26.6.40	20	”	+ (esporos.)	—
”	8	”	”	”	6.6.40	2.7.40	26	”	inutilizada	—
39	1	300	25	7.8	8.6.40	22.6.40	14-6 (*)	J. O.	+	—
”	2	”	”	”	8.6.40	28.6.40	20-10	”	+	—
”	3	”	”	”	8.6.40	4.7.40	26-10	”	—	+
”	4	”	”	”	8.6.40	12.7.40	34-24	”	—	—
”	5	”	”	”	8.6.40	12.7.40	34	”	—	—
”	6	”	”	”	8.6.40	13.7.40	35-25	”	—	+
”	7	”	”	”	8.6.40	17.7.40	39-29	”	inutilizada	—
”	8	”	”	”	8.6.40	17.7.40	39-29	”	+ (**)	+
44	1	3.800	23	23	17.6.40		10	E. A.	+	—
”	2	”	”	”	17.6.40	27.6.40	10	”	+	—
49	1	1.250	4	3	18.6.40	27.6.40	8	A. L.	—	—
104	2	350	10	5	7.11.40	26.6.40	16	W. O.	+	+
”	3	”	”	”	7.11.40	23.11.40	5	”	—	—
”	4	”	”	”	7.11.40	22.11.40	15	”	+	+
”	5	”	”	”	7.11.40	22.11.40	15	”	—	—
”	6	”	”	”	7.11.40	22.11.40	15	”	—	+
”	7	”	”	”	7.11.40	22.11.40	16	”	+	+
”	8	”	”	”	7.11.40	22.11.40	15	”	—	+
141	1	—	—	—	26.11.40	9.11.40	13	C. G.	—	—
”	2	—	—	—	26.11.40	9.12.40	”	”	—	—
177	7	—	7	4.5	17.12.40	21.12.40	4	P. P.	—	—
”	9	—	”	”	”	27.12.40	10	”	—	—
”	10	—	”	”	”	21.12.40	4	”	—	—
”	11	—	”	”	”	26.12.40	9	”	—	—
”	12	—	”	”	”	26.12.40	9	”	—	—
”	13	—	”	”	”	23.12.40	6	”	—	—
”	14	—	”	”	”	27.12.40	10	”	—	—
180	9	—	8.5	3	18.12.40	26.12.40	8	M. M. S.	+	—
181	2	—	10	5	18.12.40	27.12.40	9	F. N.	+	+
”	3	—	”	”	”	26.12.40	8	”	—	—
”	5	—	”	”	”	26.12.40	8	”	—	—
”	6	—	”	”	”	26.12.40	8	”	+	+
184	4	—	2	0.5	18.12.40	27.12.40	9	J. C.	—	—
”	5	—	”	”	”	26.12.40	8	”	—	—
”	6	—	”	”	”	27.12.40	9	”	—	—
”	7	—	”	”	”	27.12.40	9	”	—	—
”	8	—	”	”	”	26.12.40	8	”	—	—
185	6	—	9	5	19.12.40	26.12.40	7	E. A.	—	—
”	7	—	”	”	”	24.12.40	5	”	—	—
186	3	—	0.5	0	23.12.40	28.12.40	5	A. O.	—	—
190	1	—	4	1.5	28.12.40	9.1.41	12	N. C.	+	+
”	3	—	”	”	”	2.1.41	5	”	—	—
”	4	—	”	”	”	31.12.40	3	”	+	—
”	5	—	”	”	”	2.1.41	5	”	+	—
”	6	—	”	”	”	8.1.41	11	”	—	—
”	7	—	”	”	”	2.1.41	5	”	+	—
”	9	—	”	”	”	2.1.41	5	”	—	—
194	1	133	2.5	1	18.1.41	22.1.41	4	J. A.	+	—

(*) Nota: Os exemplares Nos. 39-1, 39-2, 39-3, 39-4, 39-6, 39-7 e 39-8 foram submetidos a duas refeições infetantes.
(**) Oocistos vasios.

fe

n
v
u
d
ta

al
p

ir
ta
a
n
q
o
c
d
ci
N
a

u
s
p
t
a
r
c
d
c
e
b
6
l
d

t

O lote No. 49, constou apenas de um mosquito, não tendo êste apresentado infeção perceptível à disseção.

No lote 104, de 7 mosquitos alimentados em doente portador de um número relativamente baixo de gametocitos, ou sejam, 350 por mm³ de sangue, foram encontrados 5 mosquitos infetados, números que indicam uma porcentagem de 71,4% de infração. Nesses exemplares 104-2, 104-4 (Microfoto 4) 104-7, 104-8 e 104-9 a infeção atingiu a fase final de esporozóitos e os prazos de incubação extrinseca variaram entre 15 e 16 dias.

Os exames procedidos nos mosquitos dos lotes Nos. 141 e 177, comportando um total de 9 mosquitos, resultaram completamente negativos, dando a impressão da má qualidade do gametóforo.

No lote 180 o único exemplar experimentado mostrou oocistos em grande número e muito desenvolvidos (Microfotos 5 e 6) depois de um prazo de 8 dias de incubação extrinseca.

Resultados também brilhantes foram colhidos com os exemplares do lote 181. Dos 4 exemplares dêsse lote, 2 mostraram-se infetados, atingindo o parasita a fase final de esporozóito dentro de prazos mínimos de 8 e 9 dias de incubação extrínseca, prazos êsses até então nunca conseguidos por nós. Êsses exemplares apresentavam também grande número de oocistos (Microfotos 7 e 8).

Nos lotes 184, 185 e 186, num total de 8 mosquitos, apenas o exemplar No. 185-7 apresentava oocistos no estômago (Microfotos 9 e 10).

Nos lotes 190 com um total de 7 mosquitos examinados, 4 se mostraram infetados e no exemplar 190-4 foi surpreendida, depois de 3 dias de incubação extrinseca, a presença de oocistos no estômago, prazo êsse o menor até então conseguido para esta fase da infeção.

No lote 194 em um exemplar examinado foi o mesmo encontrado parasitado.

Verifica-se assim que os lotes experimentados durante os meses de junho-outubro, nos quais a temperatura variou entre 25° e 16°, foram infetados numa proporção de 63,1%, enquanto que aqueles experimentados durante os meses de novembro-fevereiro, nos quais a temperatura máxima e minima atingiram os limites extremos de 33° e 20°, respectivamente, a porcentagem geral de infeção não ultrapassou a 37,8%.

Em contraposição a êsses resultados é interessante consignar o seguinte fato: nos lotes alimentados em junho-outubro foram encontrados oocistos somente no 10.° dia de incubação extrinseca e os esporozóitos foram vistos depois do 25.° dia; nos demais lotes alimentados durante os meses de novembro-fevereiro, já no terceiro dia de incubação extrinseca puderam ser observados oocistos nas paredes do estômago e os esporozóitos foram vistos livres nas glândulas salivares já no oitavo dia de incubação no mosquito.



Como acima ficou exposto a elevação das temperaturas máximas e mínimas dos dois períodos junho-outubro e novembro-fevereiro, trouxe como consequência uma baixa porcentagem geral de infeção, fato êsse paradoxal, pois era de se esperar com a elevação da temperatura ambiente um aumento de vitalidade dos gametocitos e portanto um maior número de mosquitos infetados. Mas tal discordância de comportamento poderia ser explicada também por condições próprias dos portadores de gametocitos utilizados nesses dois períodos.

Fato, no entanto, que ficou bastante em relevo foi a grande rapidez com que se desenvolveu o parasita no mosquito durante os meses em que a temperatura foi mais elevada, chegando à fase final de esporozóito no prazo extraordinariamente breve de 8 dias.

II — Experiências com *A.* (*Nyss.*) *oswaldoi oswaldoi* e *Pl. vivax.* (Quadro IV).

No lote 39.ª de um total de três mosquitos, dois apresentaram infeção das glândulas salivares depois de alimentados em gametóforo com 300 gametocitos por mm³. Embora êstes mosquitos tivessem duas alimentações em gametóforos, pode-se concluir quasi com certeza que a infetante foi a primeira, não só porque o prazo decorrido entre a 2.ª alimentação infetante e a disseção não foi suficientemente dilatado para atingir o final do ciclo, como também porque no exemplar 3 já não mais existiam oocistos, o que prova que a infeção já datava de mais tempo. O gametóforo utilizado na 1.ª refeição infetante tinha infeção mista, mas a contagem do dia não revelou *Pl. falciparum*. Os resultados dos lotes 39 e 39a, respectivamente de *guarujaensis* (Quadro III) e *oswaldoi* (Quadro IV), em que as condições de experimentação foram as mesmas, revelam a grande concordância da sensibilidade das duas subespécies.

De um total de 11 mosquitos pertencentes ao lote 84a, em três exemplares foram encontrados oocistos no estômago.

Os exemplares 84a-2 (Microfoto 11) e 84a-4, depois de um período de incubação de 12 e 5 dias, respectivamente, apresentaram pequenos oocistos e o exemplar 84a-11 (Microfoto 12) mostrou nítidos oocistos bastante pigmentados mas depois de um dilatado período de incubação de 20 dias.

Dos 8 exemplares do lote 87a, apenas o de No. 8a-5 apresentou-se com oocistos no estômago, isto no oitavo dia de incubação. No lote 88a foram também observados 2 exemplares infetados, 88a-13 (Microfoto 13) e 88a-20; no entanto a infeção não atingiu a fase final de esporozóitos, apesar de o período de incubação no mosquito ter sido, respectivamente, de 14 e 19 dias para êsses dois espécimes. Com o lote 93a todos os exemplares alcançaram prazos de incubação superiores a 19 dias e o gametóforo era suficientemente rico em gametocitos de ambos os sexos: 14 ♂♂ e 7 ♀♀ para 100 leucocitos.


SciELO

Quadro IV

ANOPHELES (NYSS.) OSWALDOI OSWALDOI INFETADOS COM *PL. VIVAX*

No. do lote	No. do exemplar	Gametócitos por mm³	Relação de gametócitos para 100 leucócitos: macrogametócito	Relação de gametócitos para 100 leucócitos: microgametócito	Data da refeição infetante	Data da dissecção	Incubação extrínseca	Doente	Resultado: Oocistos	Resultado: Esporozóitos
34 a	1	450	16	4	6.6.40	11.6.40	5	J. O.	—	—
39 a	1	300	25	7.8	8.6.40	29.6.40	21-11	J. O.	—	—
"	2	"	"	"	"	3.7.40	25-15	"	+	+
"	3	"	"	"	"	5.7.40	27-17	"	—	+
45 a	1	350	1.54	0.22	18.6.40	1.7.40	13	D. C.	—	—
67 a	2	150	—	—	30.7.40	25.8.40	26	I. B.	—	—
"	3	"	—	—	"	"	"	"	—	—
"	5	"	—	—	"	"	"	"	—	—
80 a	1	—	—	—	22.8.40	9.9.40	18	M. F. S.	—	—
"	2	—	—	—	"	7.9.40	16	"	—	—
"	3	—	—	—	"	10.9.40	19	"	—	—
"	5	—	—	—	"	"	"	"	—	—
84 a	1	1.475	—	—	31.8.40	12.9.40	12	J. M.	—	—
"	2	"	—	—	"	"	"	"	+	—
"	3	"	—	—	"	5.9.40	"	"	—	—
"	4	"	—	—	"	"	"	"	+	—
"	6	"	—	—	"	12.9.40	12	"	—	—
"	7	"	—	—	"	11.9.40	11	"	—	—
"	9	"	—	—	"	10.9.40	10	"	—	—
"	10	"	—	—	"	"	"	"	—	—
"	11	"	—	—	"	20.9.40	20	"	+	—
"	12	"	—	—	"	5.9.40	5	"	—	—
"	13	"	—	—	"	"	"	"	—	—
86 a	1	—	—	—	6.9.40	11.9.40	"	F. D.	—	—
"	4	—	—	—	"	19.9.40	13	"	—	—
"	5	—	—	—	"	25.9.40	19	"	—	—
"	7	—	—	—	"	"	"	"	—	—
87 a	1	434	—	—	16.9.40	2.10.40	16	B. P. C.	—	—
"	2	"	—	—	"	24. 9.40	8	"	—	—
"	3	"	—	—	"	19. 9.40	3	"	—	—
"	4	"	—	—	"	21. 9.40	5	"	—	—
"	5	"	—	—	"	24. 9.40	8	"	+	—
"	11	"	—	—	"	11.10.40	25	"	—	—
"	12	"	—	—	"	21. 9.40	5	"	—	—
"	14	"	—	—	"	24. 9.40	8	"	—	—
88 a	2	375	3.5	1.5	1.10.40	11.10.40	10	F. A.	—	—
"	6	"	"	"	"	23.10.40	22	"	—	—
"	7	"	"	"	"	22.10.40	21	"	—	—
"	9	"	"	"	"	23.10.40	22	"	—	—
"	10	"	"	"	"	8.10.40	7	"	—	—
"	13	"	"	"	"	15.10.40	14	"	+	—
"	15	"	"	"	"	8.10.40	7	"	—	—
"	19	"	"	"	"	22.10.40	21	"	—	—
"	20	"	"	"	"	20.10.40	19	"	+	—
"	21	"	"	"	"	14.10.40	13	"	—	—
"	23	"	"	"	"	21.10.40	20	"	—	—
"	24	"	"	"	"	24.10.40	23	"	—	—
"	28	"	"	"	"	17.10.40	16	"	—	—
89 a	1	—	3.5	2	2.10.40	16.10.40	14	F. A.	—	—
"	3	—	"	"	"	14.10.40	12	"	—	—
"	4	—	"	"	"	8.10.40	6	"	—	—
"	5	—	"	"	"	19.10.40	17	"	—	—
90 a	1	450	3	2.5	4.10.40	15.10.40	11	J. L. L.	—	—
"	2	"	"	"	"	8.10.40	4	"	—	—
"	3	"	"	"	"	17.10.40	13	"	—	—
"	5	"	"	"	"	29.10.40	25	"	—	—
"	6	"	"	"	"	22.10.40	18	"	—	—
"	9	"	"	"	"	7.10.40	3	"	—	—
91 a	2	—	3	0.5	4.10.40	21.10.40	17	J. A. S.	—	—
"	3	—	"	"	"	22.10.40	18	"	—	—
"	6	—	"	"	"	21.10.40	17	"	—	—
"	7	—	"	"	"	22.10.40	18	"	—	—
91 a	9	—	3	0.5	4.10.40	24.10.40	20	J. A. S.	—	—
"	11	—	"	"	"	6.11.40	33	"	—	—
"	13	—	"	"	"	25.10.40	21	"	—	—
"	15	—	"	"	"	18.10.40	14	"	—	—
93 a	1	—	14	7.5	5.10.40	31.10.40	26	F. D.	—	—
"	2	—	"	"	"	25.10.40	20	"	—	—
"	3	—	"	"	"	31.10.40	26	"	+	cavid. geral
"	4	—	"	"	"	24.10.40	19	"	—	—
"	5	—	"	"	"	25.10.40	20	"	—	—
94 a	4	50	18	7.5	8.10.40	6.11.40	29	J. F.	—	—
"	5	"	"	"	"	23.10.40	15	"	—	—
"	9	"	"	"	"	22.10.40	14	"	—	—
"	11	"	"	"	"	25.10.40	17	"	—	—
"	13	"	"	"	"	17.10.40	9	"	—	—
"	14	"	"	"	"	6.11.40	29	"	—	—
99 a	9	—	32	15	24.10.40	9.11.40	16	A. O.	—	—
"	10	—	"	"	"	8.11.40	15	"	—	—
101 a	2	—	5	4	30.10.40	21.11.40	22	D. R.	—	—
"	5	—	"	"	"	26.11.40	27	"	—	—
"	7	—	"	"	"	"	"	"	—	—
"	8	—	"	"	"	"	"	"	—	—
"	9	—	"	"	"	7.12.40	37	"	—	—
"	10	—	"	"	"	29.11.40	30	"	—	—
104 a	5	350	10	5	7.11.40	23.11.40	16	W. O.	—	+
"	11	"	"	"	"	22.11.40	15	"	—	—
"	12	"	"	"	"	"	"	"	+	+
"	14	"	"	"	"	12.11.40	5	"	—	—
154 a	3	50	2	0	28.11.40	9.12.40	11	J. V.	—	—
"	4	"	"	"	"	5.12.40	7	"	—	—
"	5	"	"	"	"	9.12.40	11	"	—	—
171 a	1	—	11.5	3	5.12.40	19.12.40	9	E. D.	—	—
"	2	—	"	"	"	13.12.40	"	"	—	—
176 a	1	—	18	2	13.12.40	18.12.40	5	O. L.	—	—
"	2	—	"	"	"	20.12.40	7	"	—	—
"	3	—	"	"	"	17.12.40	4	"	—	—
"	5	—	"	"	"	20.12.40	7	"	—	—
"	6	—	"	"	"	"	"	"	—	—
"	7	—	"	"	"	19.12.40	6	"	—	—
177 a	1	—	7	4.5	17.12.40	23.12.40	7	P. P.	—	—
180 a	3	—	8.5	3	18.12.40	27.12.40	9	M. M. S.	—	—
"	5	—	"	"	"	26.12.40	8	"	—	—
"	6	—	"	"	"	"	"	"	+	—
"	7	—	"	"	"	"	"	"	—	—
181 a	4	—	10	5	18.12.40	21.12.40	3	F. N.	—	—
"	8	—	"	"	"	27.12.40	9	"	+	—
"	9	—	"	"	"	24.12.40	6	"	+	—
"	11	—	"	"	"	"	"	"	—	—
184 a	1	—	2	0.5	18.12.40	26.12.40	8	I. C.	—	—
185 a	3	—	9	5	19.12.40	26.12.40	7	E. A.	—	—
186 a	2	—	0.5	0	23.12.40	28.12.40	5	A. O.	—	—
"	3	—	"	"	"	"	"	"	—	—
188 a	1	—	1.5	0.5	26.12.40	30.12.40	4	J. S.	—	—
"	3	—	"	"	"	2. 1.41	7	"	—	—


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15

Apesar dêsses fatores favoráveis, dos 5 exemplares experimentados, em um apenas, e, depois de 26 dias de infeção, foram encontrados esporozóitos na cavidade geral do mosquito, mostrando-se negativos nas glândulas salivares. Um tão prolongado período de incubação ocorreu durante o mês de outubro, quando as oscilações de temperaturas variaram entre os limites de 25° e 19°.

Com o lote 104a, experimentado durante o mês de novembro, quando a temperatura oscilou entre 29° e 20°, os resultados foram bastante diferentes. Embora o gametóforo que alimentou êsse lote apresentasse menores quantidades de gametocitos, 10 ♂♂ e 5 ♀♀, foram constatados em dois dos quatros exemplares esporozóitos nas glândulas salivares e isto em prazos muito menores. No exemplar 104a-5 a constatação foi feita com 16 dias de incubação extrínseca e no exemplar 104a-12, com 15 dias de incubação foram encontrados oocistos (Microfoto 14) e esporozoitos em grande quantidade (Microfoto 15). Acreditamos que tal diversidade de comportamento tenha sido motivada pela diferença de temperaturas durante o decurso da observação dos dois lotes, sendo de se notar que a vitalidade dos microgametocitos foi perfeitamente constatada no exame do sangue a fresco.

Com os lotes 180a e 181a examinados durante o mês de dezembro e comportando um total de oito exemplares em três dêles, foi constatada a presença de oocistos, e isto dentro de prazos que variaram entre 6 e 9 dias. Deve aqui merecer um reparo especial o grau de desenvolvimento atingido pelos oocistos no exemplar 180a-6 (Microfoto 16), que em 8 dias de evolução atingiu dimensões muito superiores às verificadas em outros exemplares com periodo de incubação mais dilatado, como pode ser verificado nos espécimes 84a-2 (Microfoto 11) e 84a-11 (Microfoto 12), em que êsse período foi respectivamente de 12 e 20 dias.

Os lotes Nos. 34a, 45a, 67a, 89a, 90a, 91a, 94a, 99a, 101a, 154a, 171a, 176a, 177a, 184a, 185, 186a e 188a, comportando um total de 63 exemplares, não apresentaram infeção.

Nesse grupo de experiencias comportando um total de 115 mosquitos foi encontrada uma porcentagem de infeção de 12,1%.

Fazendo uma comparação entre os lotes experimentados nos periodos de junho-outubro e novembro-fevereiro, êste último período de temperaturas mais elevadas, póde ser constatado o seguinte resultado: no período de junho-outubro foram experimentados 85 exemplares, tendo sido de 9 o número de espécimes infetados, representando uma porcentagem de 10,5% de infeção. Nos lotes experimentados no período de novembro-fevereiro num total de 30 mosquitos, 5 dêles estavam infetados, correspondendo a uma porcentagem de 16,6% de infeção.

Como já ficou demonstrado nos grupos de *A. (N.) oswaldoi guarujaensis* experimentados, o período de incubação da infeção do mosquito foi extraordinariamente menor no periodo de novembro-fevereiro do que em junho-outubro.



Também nos grupos de *A.* (*N.*) *oswaldoi oswaldoi* êsse fato foi observado, [em]bora os prazos aqui obtidos não fossem tão curtos como no grupo anterior.

III — Experiências com *A.* (*N.*) *oswaldoi guarujaensis* e *Pl. falcipa[rum]* (Quadro VI).

A experimentação foi feita com 42 exemplares, dos quais 12 foram en[con]trados infetados, isto é, 28,5%.

Comparando-se os resultados dos lotes trabalhados nos períodos de [ju]nho-outubro e de novembro-fevereiro, verifica-se que no primeiro período fo[ram] experimentados 35 exemplares com uma porcentagem de infeção de 22,8%, [en]quanto que no segundo período essa porcentagem se elevou para 57,1% co[m] mosquitos infetados no total de 7 experimentados.

O lote 31 constituido de 9 exemplares, foi alimentado em gametóforo [c] 1.100 gametocitos por mm³. Só o exemplar 9 foi encontrado infetado, apre[sen]tando oocistos no estômago, isto após 16 dias de incubação no mosquito.

Com o lote 32 foram observados os melhores resultados possíveis, pois [dos] 4 exemplares experimentados todos êles, isto é, 100%, se apresentaram infeta[dos].

Dos 5 exemplares do lote 40, em 3, isto é, 60%, foi constatada a infeção.

Também com o lote 103 os resultados foram apreciáveis, pois que foi ob[tida] uma porcentagem de infeção de 57,1%.

Nos lotes 33, 36, 51 e 69, comportando um total de 17 exemplares, não [foi] verificada infeção alguma.

IV — Experiências com o *A.* (*N.*) *oswaldoi oswaldoi* e *Pl. falciparum* (Quadro V).

Foi utilizado um total de 105 exemplares, mas apenas em 4 espécimes p[ôde] ser observada infeção, representando uma porcentagem inferior a 4%.

Dêsse total de 105 mosquitos, 99 foram experimentados no período ju[nho]-outubro e somente 6 exemplares estão incluidos no período novembro-fevere[iro]. No primeiro dêsses períodos foram encontrados 4 exemplares infetados, enqu[anto] que no segundo período não foi obtida nenhuma infeção.

Os lotes de mosquitos que constituiram êste grupo de experiências apres[en]taram resultados muito irregulares, principalmente se compararmos com aqu[êles] dos demais grupos de experiências. Assim, dos exemplares que foram conse[gui]dos infetados dentre os 105 experimentados, 75% pertenciam ao lote [...] Nesse lote constituido de 5 exemplares e alimentado em gametóforo com de[nsi]dade de gametocito relativamente baixa, 4 ♀♀ e 2 ♂♂ para 100 leucoci[tos] foram encontrados 3 espécimes infetados, representando uma porcentagem [de] infeção para o lote de 60%.

Quadro V

ANOPHELES (NYSS.) OSWALDOI GUARUJAENSIS INFETADOS COM *PL. FALCIPARUM*

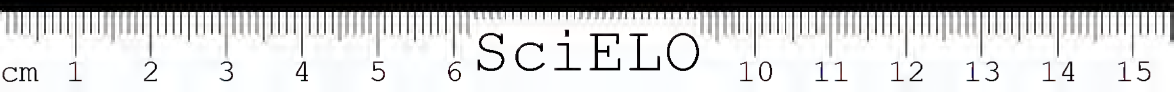
No. do lote	No. do exemplar	Gametocitos por mm³	RELAÇÃO DE GAMETOCITOS PARA 100 LEUCOCITOS		Data da refeição infetante	Data da disseção	Dias de incubação extrinseca	Doente	RESULTADO	
			macrogametocito	microgametocito					Oocistos	Esporozóitos
31	1	1.100	—	—	4.6.40	10. 6.40	6	O. S.	—	—
"	2	"	—	—	"	"	"	"	—	—
"	3	"	—	—	"	"	"	"	—	—
"	4	"	—	—	"	"	"	"	—	—
"	5	"	—	—	"	11. 6.40	7	"	—	—
"	6	"	—	—	"	12. 6.40	8	"	—	—
"	7	"	—	—	"	20. 6.40	16	"	—	—
"	8	"	—	—	"	"	"	"	—	—
"	9	"	—	—	"	"	"	"	+	—
32	1	1.666	17,6	15,1	5.6.40	20. 6.40	15	O. S.	+	—
"	2	"	"	"	"	21. 6.40	16	"	+	—
"	3	"	"	"	"	"	"	"	+	—
"	4	"	"	"	"	25. 6.40	20	"	+	+ (cavidade geral)
33	1	50-60	3	2	5.6.40	10. 6.40	5	A. C.	—	—
"	2	"	"	"	"	21. 6.40	16	"	—	—
"	3	"	"	"	"	"	"	"	—	—
36	1	750	8	7	6.6.40	27. 6.40	21- 9	O. S.	—	—
"	2	"	"	"	"	28. 6.40	22-10	"	—	—
"	3	"	"	"	"	30. 6.40	24-12	"	—	—
"	4	"	"	"	"	1. 7.40	25-13	"	—	—
"	5	"	"	"	"	"	"	"	—	—
40	1	—	4	2	10.6.40	28. 6.40	18	J. V. S.	+	—
"	2	—	3	"	"	29. 6.40	19	"	—	—
"	3	—	"	"	"	2. 7.40	22	"	+	+
"	4	—	"	"	"	11. 7.40	31	"	+	—
"	5	—	"	"	"	16. 7.40	36	"	—	—
51	1	650	9,9	4,2	26.6.40	1. 7.40	5	E. A.	—	—
"	2	"	"	"	"	"	"	"	—	—
"	3	"	"	"	"	"	"	"	—	—
"	4	"	"	"	"	2. 7.40	6	"	—	—
"	5	"	"	"	"	11. 7.40	15	"	—	—
"	6	"	"	"	"	15. 7.40	19	"	—	—
"	7	"	"	"	"	24. 7.40	28	"	—	—
"	8	"	"	"	"	"	"	"	—	—
69	9	800	9,52	8,84	1.8.40	22. 8.40	21	E. M.	—	—
103	7	—	26	10	5.11.40	25.11.40	20	O. D.	+	—
"	10	—	"	"	"	18.11.40	13	"	—	—
"	14	—	"	"	"	23.11.40	18	"	+	+
"	17	—	"	"	"	22.11.40	17	"	—	—
"	18	—	"	"	"	"	"	"	—	—
"	19	—	"	"	"	18.11.40	13	"	+	—
"	21	—	"	"	"	25.11.40	20	"	—	+

QUADRO VI

ANOPHELES (NYSS.) OSWALDOI OSWALDOI INFETADOS COM *PL. FALCIPARUM*

No. do lote	No. do exemplar	Gametocitos por mm³	Relação de gametocitos para 100 leucocitos		Data da refeição infetante	Data da dissecção	Dias de incubação extrinseca	Doente	Resultado	
			macrogametocito	microgametocito					Oocistos	Esporozóitos
35a	1	750	8	7	6.6.40	17.6.40	11 dias	O. S.	—	—
"	2	"	"	"	"	"	"	"	—	—
"	3	"	"	"	"	"	"	"	—	—
"	4 (*)	"	"	"	"	26.6.40	20	"	—	—
40a	1	—	4	2	10.6.40	27.6.40	17	J. V. S.	—	—
"	2	—	"	"	"	29.6.40	19	"	+	—
"	3	—	"	"	"	13.7.40	33	"	—	—
"	4	—	"	"	"	"	"	"	—	+
"	5	—	"	"	"	17.7.40	37	"	—	+
41a	1	100	7,93	2,26	12.6.40	17.6.40	5	C. B.	—	—
"	2	"	"	"	"	20.6.40	8	"	—	—
42a	1	100	0,82	0,55	12.6.40	17.6.40	5	J. O.	—	—
"	2	"	"	"	"	"	"	"	—	—
"	3	"	"	"	"	18.6.40	6	"	—	—
64a	1	—	1,4	1,4	29.7.40	—	+ de 8	J. F. J.	—	—
"	2	—	"	"	"	3.8.40	5	"	—	—
"	4	—	"	"	"	6.8.40	8	"	—	—
65a	3	120	1,29	0	30.7.40	23.8.40	24	J. F. J.	—	—
"	5	"	"	"	"	9.8.40	10	"	—	—
"	6	"	"	"	"	14.8.40	15	"	—	—
"	9	"	"	"	"	—	+ de 6	"	—	—
68a	1	700	5,03	4,03	31.7.40	27.8.40	27	E. M.	—	—
"	2	"	"	"	"	20.8.40	20	"	—	—
"	4	"	"	"	"	"	"	"	—	—
"	7	"	"	"	"	27.8.40	27	"	—	—
"	8	"	"	"	"	26.8.40	26	"	—	—
"	9	"	"	"	"	27.8.40	27	"	—	—
69a	5	800	9,52	8,84	1.8.40	27.8.40	26	E. M.	—	—
"	6	"	"	"	"	26.8.40	25	"	—	—
"	7	"	"	"	"	27.8.40	26	"	—	—
"	10	"	"	"	"	"	"	"	—	—
"	11	"	"	"	"	16.8.40	15	E. M.	—	—
"	12	"	"	"	"	29.8.40	26	"	—	—
"	15	994	12,94	10,58	2.8.40	28.8.40	"	"	—	—
70a	1	994	12,94	10,58	2.8.40	17.8.40	15	E. M.	—	—
"	2	"	"	"	"	3.9.40	32	"	—	—
"	4	"	"	"	"	21.8.40	19	"	+	—
71a	1	3.093	45,45	42,72	3.8.40	22.8.40	19	E. M.	—	—
"	2	"	"	"	"	21.8.40	18	"	—	—
"	3	"	"	"	"	15.8.40	12	"	—	—
"	4	"	"	"	"	19.8.40	16	"	—	—
"	5	"	"	"	"	15.8.40	12	"	—	—
"	6	"	"	"	"	8.8.40	5	"	—	—
"	7	"	"	"	"	15.8.40	12	"	—	—
"	8	"	"	"	"	16.8.40	13	"	—	—
"	10	"	"	"	"	22.8.40	19	"	—	—
"	12	"	"	"	"	23.8.40	20	"	—	—
"	13	"	"	"	"	"	+ de 4	"	—	—
73a	1	—	—	—	4.8.40	19.8.40	15	E. M.	—	—
"	2	—	—	—	"	23.8.40	19	"	—	—
"	4	—	—	—	"	"	"	"	—	—
"	5	—	—	—	"	"	"	"	—	—
"	7	—	—	—	"	17.8.40	13	"	—	—
"	8	—	—	—	"	26.8.40	22	"	—	—
"	9	—	—	—	"	20.8.40	16	"	—	—
73a	10	—	—	—	4.8.40	24.8.40	20	E. M.	—	—
"	11	—	—	—	"	19.8.40	15	"	—	—
"	13	—	—	—	"	29.8.40	25	"	—	—
74a	2	3.350	29,26	26,82	5.8.40	22.8.40	17	E. M.	—	—
"	3	"	"	"	"	4.9.40	29	"	—	—
"	4	"	"	"	"	"	"	"	—	—
"	5	"	"	"	"	23.8.40	18	"	—	—
"	7	"	"	"	"	26.8.40	21	"	—	—
"	11	"	"	"	"	15.8.40	10	"	—	—
"	13	"	"	"	"	3.9.40	29	"	—	—
"	14	"	"	"	"	19.8.40	14	"	—	—
"	18	"	"	"	"	16.8.40	11	"	—	—
"	19	"	"	"	"	21.8.40	16	"	—	—
"	22	"	"	"	"	20.8.40	16	"	—	—
75a	3	"	"	"	"	21.8.40	16	E. M.	—	—
76a	1	843	—	—	8.8.40	15.8.40	7	E. M.	—	—
"	2	"	—	—	"	24.8.40	16	"	—	—
"	3	"	—	—	"	17.8.40	9	"	—	—
"	7	"	—	—	"	23.8.40	15	"	—	—
"	10	"	—	—	"	24.8.40	16	"	—	—
"	14	"	—	—	"	22.8.40	14	"	—	—
77a	1	—	—	—	9.8.40	23.8.40	14	E. M.	—	—
79a	1	—	—	—	20.8.40	27.8.40	7	D. R.	—	—
"	3	—	—	—	"	9.9.40	20	"	—	—
"	4	—	—	—	"	6.9.40	17	"	—	—
"	5	—	—	—	21.8.40	9.9.40	19	"	—	—
"	7	—	—	—	22.8.40	29.8.40	7	"	—	—
"	8	—	—	—	"	26.8.40	4	"	—	—
83a	1	—	3	1	30.8.40	13.9.40	14	O. S.	—	—
"	3	—	"	"	"	10.9.40	11	"	—	—
"	5	—	"	"	"	"	"	"	—	—
"	6	—	"	"	"	16.9.40	17	"	—	—
"	8	—	"	"	"	19.9.40	20	"	—	—
"	10	—	"	"	"	11.9.40	12	"	—	—
"	11	—	"	"	"	30.9.40	31	"	—	—
"	12	—	"	"	"	11.9.40	12	"	—	—
"	13	—	"	"	"	30.9.40	31	"	—	—
"	14	—	"	"	"	19.9.40	20	"	—	—
"	15	—	"	"	"	30.10.40	31	"	—	—
"	17	—	"	"	"	"	"	"	—	—
"	18	—	"	"	"	11.9.40	12	"	—	—
97a	1	—	8,5	3,5	9.10.40	23.10.40	14	O. D.	—	—
"	2	—	"	"	"	29.10.40	20	"	—	—
"	3	—	"	"	"	31.10.40	22	"	—	—
197a	2	—	6,5	2,5	23.1.41	28.1.41	5	B. F.	—	—
"	3	—	"	"	"	"	"	"	—	—
200a	1	—	—	—	4.2.41	7.2.41	3	C. N. O.	—	—
"	2	—	—	—	"	"	"	"	—	—
"	3	—	—	—	"	"	"	"	—	—
"	4	—	—	—	"	"	"	"	—	—

(*) O exemplar 35a-4 foi alimentado duas vêzes no mesmo gametóforo.



Dos demais exemplares experimentados apenas no exemplar 70a-4 foi notada a presença de oocistos no estômago e isto depois de um prazo de 19 dias de incubação no mosquito.

Comparando os resultados dêsse lote 40a com os de seu homólogo 40 (Quadro V), verifica-se que aqui *guarujaensis* e *oswaldoi*, em condições absolutamente idênticas, mostraram igual sensibilidade. Êsse resultado contrasta no entanto com aquele obtido e retirado do número total de exemplares dessas duas variedades experimentadas com *Pl. falciparum*. Para as variedades *guarujaensis* e *oswaldoi* foram obtidas as porcentagens de infeção de 28,5% e 3,8%, respectivamente, parecendo ter corrido essa divergência de resultado mais por conta de uma questão dependente da infetuosidade dos gametocitos do que propriamente da sensibilidade de cada um dessas variedades, pois como foi referido linhas acima, essas duas variedades, quando experimentadas em perfeita igualdade de condição e de número, apresentaram resultados perfeitamente iguais.

INFETUOSIDADE DOS GAMETOCITOS

A capacidade infetante dos gametocitos está subordinada a uma série de condições que na prática não sabemos apreciar devidamente, tornando-se a escolha de um bom gametóforo problema de difícil averiguação.

A densidade de gametocitos por mm³ de sangue nem sempre é índice seguro para avaliação das bôas qualidades do gametóforo.

Embora tenham sido mais frequentes as infeções dos mosquitos alimentados em gametóforos com alta densidade de gametocitos, isso não impediu que fossem observadas infeções quando era bastante baixo o número dêsses elementos. Assim aconteceu com os lotes 40 e 40a, alimentados em gametóforo com baixa relação de gametocitos e, no entanto, foi constatada uma porcentagem de infeção de 60%.

Ocorrência interessante foi verificada com o gametóforo E. M. quando nos dias 31.7, 1.8, 2.8, 3.8, 5.8 e 5.8 alimentou os lotes 68a, 69a, 70a, 71a, 74a e 75a. Em todos êsses dias o número de gametocitos por mm³ de sangue foi elevado, principalmente nos dias 3 e 5. Nos dias em que mais elevada foi a contagem, englobando um total de 23 mosquitos (Lotes 71a, 74a e 75a), nenhum dêles foi encontrado infetado. No entanto o lote 70a, composto apenas de 3 exemplares e alimentados em dia no qual a densidade de gametocitos foi mais de três vêzes menor do que a dos três últimos lotes, foi encontrado um dêsses exemplares infetado. O Quadro VII mostra melhor êsse contraste a que acabamos de nos referir.

QUADRO VII

Lote	Gametóforo	Dia da alimentação	Contagem de parasitos por mm.^{3}	No. de mosquitos dissecados	No. de mosquitos infetados
68a	E.M.	31.7	700	6	0
69a	E.M.	1.8	800	.7	0
70a	E.M.	2.8	994	3	1
71a	E.M.	3.8	3.093	11	0
74a	E.M.	5.8	3.350	11	0
75a	E.M.	5.8	3.350	1	0

Procedente de S. Vicente obtivemos por criação um lote (Lote 194) co posto de 19 mosquitos da série *tarsimaculatus*, não incluidos nos quadros de feção por não terem sido as subespécies identificadas. Êsse lote foi alimenta em gametóforo, J. A., que no momento de ser sugado apresentava densidade 133 gametocitos de *Pl. vivax* por mm^3 de sangue e a relação dêsses elemen para 100 glóbulos brancos era de 2,5 ♀♀ e 1 ♂♂. Dêsses 19 exemplares foram inutilizados no áto da dissecção, ficando o lote reduzido a 15. Dos espécimes, 12, ou sejam 80%, foram encontrados fortemente parasitados e pu ram ser observados oocistos e esporozóitos nos prazos relativamente curtos de a 9 dias, respectivamente. As Microfotografias 17, 18, 19, 20 e 21 referen aos exemplares 194-5, 194-10 e 194-16 nos dão idéia exata da intensidade d infeções ocasionadas por êsse gametóforo apesar da pequena densidade de gan tocitos.

Tais fatos estão, em parte, de acôrdo com as observações de Boyd e Thom (47) sôbre a falta de relação entre a infeção qualitativa e o número de gan tocitos e parecem sugerir a hipótese de que, além da receptividade das anofelir e do estado de maturação dos gametocitos, ainda outras condições desconhecid são exigidas para que se processe a infeção. Pelo observado nos gametófor O S. e E. M. verifica-se como oscila de um dia para outro o número gametocitos.

Em algumas das verificações de Boyd, Carr e Rozeboon (48), no Quad II, só se poderão atribuir os resultados registados à deficiência da técnica contagem, pois chegam a referir, no caso 261,0% de ♀♀ e ♂♂ por mm^3, dar infeção de 66% de *A. quadrimaculatus* com *Pl. vivax*... Mais abaixo (No. 860) referem 0% de macrogametocitos, dando 100% de infeções, inclusive mosquitos com mais de 100 oocistos; como *A. quadrimaculatus* ingere cêrca 0 g 0032 de sangue (Boyd, Carr e Rozeboon, *loc. cit.*), é evidente que o núme de macrogametocitos deveria ser de, pelo menos, 30 por mm^3 para dar lugar aparecimento de 100 oocistos.

SITUAÇÃO DA ESTANCIA BALNEÁRIA DO GUARUJÁ EM RELAÇÃO AO PROBLEMA DA TRANSMISSÃO DA PLASMODEOSE

Na ilha de Santo Amaro, litoral de S. Paulo, reina a malária (*Pl. vivax* e *Pl. falciparum*) sob forma endemo-epidêmica, tendo, ainda, no ano de 1940, sobrevindo surto de regular intensidade.

A Seção de Entomologia do Serviço de Profilaxia da Malária em numerosas capturas de adultos e larvas realizadas na estância balneária do Guarujá, durante os meses de março de 1939 e de janeiro a julho de 1940, abrangendo 4.844 exemplares, apenas conseguiu determinar, na Ilha de Santo Amaro, a presença de cinco anofelinas:

A. (*N.*) *oswaldoi guarujaensis*
A. (*N.*) *oswaldoi oswaldoi*
A. (*A.*) *eiseni*
A. (*Arr.*) *intermedius*
A. (*K.*) *cruzi*

Apesar do número elevado de exemplares capturados, não foi possível encontrar até aquela ocasião *A.* (*N.*) *albitarsis* registado nesta ilha, em 1927, por Prado (49).

Das espécies encontradas *A.* (*N.*) *oswaldoi guarujaensis* e *A.* (*N.*) *oswaldoi oswaldoi* predominam sempre sôbre as demais, quer em capturas domiciliares, quer com isca animal, quer na fase de larva, representando estas duas anofelinas 85% do total capturado, cabendo a *A.* (*N.*) *oswaldoi guarujaensis* 57,8% sôbre o total e a *A.* (*N.*) *oswaldoi oswaldoi* 27,2%, o que bem demonstra a sua predominância sôbre as demais espécies.

Os anofelinos identificados como *A.* (*N.*) *tarsimaculatus* têm sido diferentemente apreciados no que se refere à sua importância como vetores da malária.

Darling (8) tem *A.* (*N.*) *tarsimaculatus* na conta de bom vetor no Panamá, o mesmo conceito emitindo de Verteuil (50) para Trindade, Nicholls (19) e Earle (7) para Santa Lucia, nas Índias Ocidentais, Bonne Bonne-Wepster (11) em relação a Paramaribo. Ao contrário disso, Shannon e Del Ponte (10) dizem ser possivelmente bom transmissor em Missiones, não apresentando, porém, importância no N. O. argentino. Boyd (18) considera *tarsimaculatus* A.A. espécie de preferência zoófila e de papel secundário na epidemia que observou no Estado do Rio, o mesmo juizo emitindo Davis (26) sôbre o seu papel em Belém, Estado do Pará. Curry (51) nega importância à subespécie *aquasalis* no Panamá; Cesar Pinto (52) diz que o poder de transmissão deve ser insignificante, dada a raridade de seu encontro em domicílios.

A (*N.*) *oswaldoi guarujaensis* (= *A.* (*N.*) *tarsimaculatus* dos autores), por ser variedade recém-descrita, não teve até agora ainda a sua capacidade vetora devidamente apreciada.

Sôbre *A.* (*N.*) *oswaldoi oswaldoi* [= *A.* (*N.*) *tarsimaculatus oswaldoi* PERYASSÚ, 1922] poucos são os autores que emitem opinião. Boyd (18) julga-o talvez pouco sensível à infeção, embora tenha encontrado infetado um exemplar entre 13 dissecados no Estado do Rio. Galvão (53), confirmando observações de Bonne, diz ser esta anofelina zoóiila e ter importância reduzida na transmissão da malária. Freitas, entretanto, conseguiu o infeção experimental com *Pl. falciparum* em 1941 e observou a infeção natural, no Estado do Rio e no Distrito Federal (9).

As restantes espécies encontradas em Guarujá e em suas imediações apenas tiveram até hoje sensibilidade comprovada experimentalmente: *A.* (*Arr.*) *intermedius* para *Pl. falciparum* até a fase de oocisto por Neiva e Ruy Ladislao (1) no Xerém, Estado do Rio; *A.* (*K.*) *cruzi* até oocisto por Davis (14) em Angra dos Reis, Estado do Rio, atingindo a fase final de esporozóito nas experiências de Fl. da Fonseca e R. R. Corrêa, em Guarujá (15), e, talvez, em infeção natural, por Galli-Valerio (35), no Paraná; *A.* (*A.*) *eiseni* até oocisto por Simons (16), na Panamá, e com *Pl. falciparum* até esporozóito por J. A. B. Fonseca, em Guarujá (17).

Das espécies capturadas sabemos que *eiseni* só dificilmente ataca o homem ou animais domésticos (só foram capturados em fase de larva, em número de 509); que *cruzi* figurou em número ínfimo (13 exemplares) e que *intermedius*, na proporção encontrada, não bastaria para explicar o intenso surto epidêmico.

A. (*N.*) *oswaldoi oswaldoi*, embora mais frequente do que as espécies já referidas, também parece não desempenhar papel de relevância na transmissão da malária em Guarujá, muito embora em provas experimentais e em igualdade de condições com *A.* (*N.*) *oswaldoi guarujaensis* (Lotes 40 e 40ª), tenha apresentado também idêntica sensibilidade para os plasmódeos humanos.

Capturados em domicílio obtivemos 167 exemplares, dos quais 165 foram identificados como *A.* (*N.*) *oswaldoi guarujaensis*, 1 como *A.* (*K.*) *cruzi*. Todos êsses mosquitos foram dissecados, tendo sido encontrados oocistos (Microfoto 22) no estômago de 3 exemplares de *A.* (*N.*) *oswaldoi guarujaensis*, representando êsses números uma porcentagem de 1,3% de infeção natural para essa variedade.

Os resultados das disseções realizados durante êsse período estão condensados no Quadro VIII.

Quadro VIII

Mês	ESPÉCIE	No. de exempl.	RESULTADO DA DISSEÇÃO			
			Estômago		Glândula	
			Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Nov.º	*A.* (*N.*) *oswaldoi guarujaensis*	112	3	93	0	107
Dez.º	*A.* (*N.*) *oswaldoi guarujaensis*	49	0	46	0	49
Jan.º	*A.* (*K.*) *cruzi*	1	0	1	0	1
Março	*A.* (*N.*) *oswaldoi guarujaensis*	1	0	1	0	1
"	*A.* (*N.*) *oswaldoi oswaldoi* ..	1	0	1	0	1
Abril	*A.* (*N.*) *oswaldoi guarujaensis*	1	0	1	0	1
Maio	*A.* (*N.*) *oswaldoi guarujaensis*	1	0	1	0	1
Junho	*A.* (*N.*) *oswaldoi*	1	0	0	0	1

Tendo em vista a frequência com que o *A.* (*N.*) *oswaldoi guarujaensis* foi capturado no interior de domicílios, predominando de maneira absoluta sôbre as demais espécies, onde, foi encontrado naturalmente infetado, não temos dúvida em responsabilizá-lo como o principal vetor de malária na estância balneária de Guarujá, muito embora nas provas de sensibilidade para os plasmódeos humanos o *A.* (*N.*) *oswaldoi oswaldoi* tenha se mostrado em certas condições igualmente sensível.

Achado interessante foi por nós assinalado no exemplar 183-4. Êsse mosquito foi encontrado naturalmente infetado com esporozóitos nas glândulas salivares. A disseção do estômago revelou a presença de corpo arredondado parcialmente enegrecido (Microfoto 23) e que julgamos ser a cavidade deixada na parede do estômago após o esvasiamento do oocisto e aparentemente invadida por cogumelos. Essa ocorrência parece não ser extremamente rara, pois em um exemplar utilizado em provas de infeção experimental, observamos na parede do estômago inúmeros corpúsculos negros (Microfoto 24), apresentando aproximadamente as dimensões de um oocisto.

Todas as microfotografias do presente trabalho foram tiradas com 70 cm de altura de fole e ocular No. 7, tendo sido usada objetiva 8 para os pequenos aumentos e objetiva 40 para os grandes.

CONCLUSÕES

1. As profundas modificações introduzidas ultimamente no conceito da espécie e subespécie das anofelinas do subgênero *Nyssorhynchus*, especialmente das séries *tarsimaculatus*, reduziram por tal forma os conhecimentos sôbre a

transmissão da malária humana, que uma revisão à luz dos conhecimentos modernos se torna altamente desejável.

2. No presente trabalho foram infetados *Anopheles (Nyssorhynchus) oswaldoi oswaldoi* Galvão *et* Lane, 1938, e *Anopheles (Nyssorhynchus) oswaldoi guarujaensis* Ramos provindos da criação de fêmeas grávidas capturadas em Guarujá, Ilha de Sto. Amaro, S. Paulo, de julho de 1940 a fevereiro de 1941.

3. Foi obtida a infeção experimental de *A. (Nyssorhynchus) oswaldoi guarujaensis* em 46,4% de 56 exemplares e a de *A. (Nyssorhynchus) oswaldoi oswaldoi* em 12% de 115 exemplares alimentados em gametóforos com *Pl. vivax*.

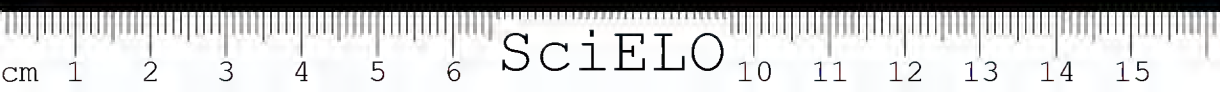
4. *Anopheles (Nyssorhynchus) oswaldoi guarujaensis* e *Anopheles (Nyssorhynchus) oswaldoi oswaldoi* foram infetados experimentalmente em *Pl. falciparum*, tendo a percentagem de infeções sido de 28,5% sôbre 42 exemplares para o primeiro e de 3,8% sôbre 105 exemplares para o segundo.

5. A porcentagem total de infeções obtidas (conclusões 3 e 4) que parece demonstrar sensibilidade menor de *A. (N.) oswaldoi oswaldoi* em relação a *A. (N.) oswaldoi guarujaensis*, está em desacôrdo com a observação de igual sensibilidade sempre que as condições da experimentação foram as mesmas para as duas subespécies, isto é, alimentação na mesma data e no mesmo gametóforo.

6. À temperatura de 16 a 28°, nos meses de junho a outubro o ciclo esporogônico de *Plasmodium vivax* levou 25 dias a se completar e o de *Plasmodium falciparum* 22 dias em *A. (N.) oswaldoi guarujaensis*. O aparecimento mais precoce de oocistos deu-se ao cabo de 10 dias com *Pl. vivax* e de 15 dias com *Pl. falciparum*.

7. Disseções sistematicamente praticadas em mosquitos com prazo de infeção cada vez menor permitiram verificar que o ciclo exógeno completo de *Plasmodium vivax* pode ter lugar em *A. (N.) oswaldoi guarujaensis*, até com oito dias apenas, no mês de dezembro, à temperatura de 23° a 33°C, podendo os oocistos ser vistos a partir do 3.° dia. A mesma subespécie infetada com *Pl. falciparum* apenas permitiu observar infeção de glândulas salivares 18 dias após a refeição infetante, tendo sido vistos oocistos a partir do 13.° dia, não tendo, entretanto, sido feita pesquisa especialmente destinada a verificar os prazos mínimos.

8. À temperatura de 16 a 28°, nos meses de jundo a outubro, o ciclo exógeno de *Pl. vivax* levou, no mínimo, 25 dias a se completar e o de *Pl. falciparum*, no mínimo, 33 dias, em *A. (N.) oswaldoi oswaldoi*. O aparecimento mais rápido de oocistos foi surpreendido ao cabo de 5 dias em *Pl. vivax* e de 19 com *Pl. falciparum*, não tendo com esta última espécie de plasmódeo havido oportunidade de pesquisar especialmente o prazo mínimo da evolução.



9. A temperatura de 20-33°, nos meses de novembro a fevereiro, o ciclo exógeno de *Pl. vivax* levou, no mínimo, de 15 dias a se completar em *A.* (*N.*) *oswaldoi oswaldoi*. O aparecimento mais precoce de oocistos foi de 6 dias em *Pl. vivax*.

10. Durante os meses de junho a outubro, sempre que um exemplar infetado resistia durante lapso de tempo superior a 20 dias (prazo mínimo necessário ao aparecimento de esporozóitos durante aquele período), o ciclo exógeno se completou, com uma única exceção em 11 casos.

11. Só foram encontrados oocistos até o 26.° dia após a refeição infetante, excetuando o caso da conclusão anterior, no qual, apesar de decorridos 31 dias ainda havia oocistos imaturos, o que sugere a hipótese de uma paralização completa do desenvolvimento do parasito. Em outro caso, em que foi visto oocisto com 29 ou 39 dias de infeção, êste se encontrava já vazio.

12. O prazo máximo durante o qual as anofelinas se mostram infetantes foi de 37 dias para *A.* (*N.*) *oswaldoi oswaldoi* infetado em julho com *Pl. falciparum* e de 27 dias para o mesmo infetado no mesmo mês com *Pl. vivax*. Em *A.* (*N.*) *oswaldoi guarujaensis* infetado em junho, o mínimo prazo foi de 34 dias para *Pl. vivax* e de 22 dias para *Pl. falciparum*, sendo de crer que, em condições normais, êsses prazos sejam mais dilatados.

13. A capacidade infetante dos gametocitos não parece diretamente proporcional ao seu número. Resultados obtidos na presente experimentação demonstraram que o fator qualitativo é mais importante do que o quantitativo. Também a falta de exflagelação pesquisada *in vitro* não mostrou indice seguro da falta de poder infetante do gametóforo.

14. De 167 exemplares capturados em domicílios em Guarujá, 165 foram identificados a *A.* (*N.*) *oswaldoi guarujaensis*, 1 a *A.* (*N.*) *oswaldoi oswaldoi* e 1 a *Anopheles* (*Kertezsia*) *cruzi*.

15. Dos 165 exemplares de *A.* (*N.*) *oswaldoi guarujaensis*, 3 apresentavam oocistos no estômago.

16. Os hábitos domiciliares do *A.* (*N.*) *oswaldoi guarujaensis*, aliados à sua grande receptividade experimental e ao encontro de exemplares infetados em domicílio, levam a responsabilizá-lo como o principal vetor da malária na localidade de Guarujá, na Ilha de Sto. Amaro, durante os anos de 1940 e 1941.

RESUMO

Anopheles (*Nyssorhynchus*) *oswaldoi oswaldoi* Galvão & Lane, 1938, e *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *oswaldoi guarujaensis* Ramos foram criados em laboratório, partindo de fêmeas selvagens e infetados com *Plasmodium vivax* e *Plasmodium falciparum*.

O primeiro infetou-se com *Pl. vivax* na proporção de 12% de 115 exemplares. Com *Pl. falciparum* a proporção da infeção foi de 3.8% 105 exemplares para *oswaldoi oswaldoi* e de 28.5% sôbre 42 exemplares para *guarujaensis*.

A diferença de sensibilidade observada entre *oswaldoi oswaldoi* e *guarujaensis* parece ser apenas aparente, pois quando era usado um mesmo doente para infetar ambas as subespécies, os resultados eram concordantes.

Com *guarujaensis* foram observados oocistas de *Pl. vivax* após 3 dias e de *Pl. falciparum* após 13 dias de evolução, no mínimo, levando o ciclo completo um mínimo de 8 dias a se completar com *Pl. vivax* e de 18 dias com *Pl. falciparum*.

Com *oswaldoi oswaldoi* o aparecimento mais precoce de oocistos de *Pl. vivax* foi de 5 dias, levando o ciclo completo um mínimo de 15 dias a se completar.

O prazo máximo durante o qual as anofelinas se mostraram infetantes foi de 37 dias, a partir da data da infeção, para *oswaldoi oswaldoi* infetado com *Pl. falciparum*, e de 27 dias para o mesmo infetado com *Pl. vivax*. Com *guarujaensis* êsses prazos foram de 34 dias para *Pl. vivax* e de 22 dias para *Pl. falciparum*.

De 165 exemplares de *guarujaensis* capturados em domicílios em Guarujá, Santos, três apresentavam oocistos no estômago. Como esta espécie predomina de modo absoluto nos domicílios, deve ela ser responsabilizada pelos surtos de malária ocorridos entre os anos de 1940 e 1941.

ABSTRACT

Anopheles (Nyssorhynchus) oswaldoi oswaldoi Galvão & Lane, 1938 and *Anopheles (Nyssorhynchus) oswaldoi guarujaensis* Ramos were bred in the laboratory from wild female specimens and infected with *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum*.

The former was infected with *Pl. vivax* in the rate of 12% out of 115 specimens and the latter in the proportion of 46,4% out of 56 specimens. With *Pl. falciparum* the rate of infection was of 3.8% out of 105 specimens of *oswaldoi oswaldoi* and of 28,5% out of 42 specimens of *guarujaensis*.

The difference of sensibility observed between *oswaldoi oswaldoi* and *guarujaensis* only seems to be an apparent one, since the results were in accordance when both subspecies were submitted to experiments under same conditions.

With *guarujaensis* oocysts of *Pl. vivax* were observed after 3 days and of *Pl. falciparum* after 13 days of evolution, at least, the whole cycle taking at least 8 days from completion with *Pl. vivax* and 18 days with *Pl. falciparum*.

With *oswaldoi oswaldoi* the most precocious appearence of *Pl. vivax* oocysts was stated on the fifth day, the complete cycle taking at least 15 days for completion.

The maximum space of time during wich the anophelines proved infectant was of 37 days the date of infection for *oswaldoi oswaldoi* infected with *Pl. falciparum*, and of 27 days when infected with *Pl. vivax*. With *guarujaensis* these spaces of time were of 34 days for *Pl. vivax* and of 22 days for *Pl. falciparum*.

From the 165 specimens of *guarujaensis* captured in houses in Guarujá, Santos, three presented oocysts in the stomach. As this species predominates absolutely in the indoors, it must be considered responsible for the malaria epidemics recorded between 1940 and 1941.

BIBLIOGRAFIA

1 — *In Neiva, A.* — Mem. do Inst. Oswaldo Cruz 1(1):69.1909.

2 — *Godoy, A. & Pinto C.* — Brasil-Médico 37(3):5.1923 *et* Bol. Soc. Fluminense de Med. e Cir. 2(4-6):68.1922.

3 — *Galvão, A. L. A. & Lane, J.* — Folia Clin. et Biol. 9(3):65.1938.

4 — *Griecco, S. J.* —

5 — *Fonseca, J. A. B. & Unti, O.* — Lido na Sessão de 4 de outubro de 1941 da Seção de Hig. Med. Trop. da Ass. Paulista de Med. *In* Resumo de Malariologia, Rio de Janeiro 11.1941.

6 — *Patterson* — Ann. Dep. Nac. Hig. Bs. Aires 18(2):31.1911.

7 — *Earle, W. C.* — Amer. J. of Trop. Med. 16(4):459.1936.

8 — *Darling, S. T.* — Labor. of the Board of Health, Dept. Sanit., 1910.

9 — *Freitas, G.* — Rev. Med. Cirurgica do Brasil 50(2):103.1942.

10 — *In Shannon, R. C. & Del Ponte, E.* — Rev. Inst. Bact. Bs. Aires 5(1):29.1927.

11 — *Bonne & Bonne Wepster* — Mosquitoes of Surinam :515.1935.

12 — *Rozeboom, L. E.* — Amer. J. of Trop. Med. 15(5):521.1935.

13 — *Galvão, A. A.* — Rev. Biol. e Higiene 9(2):133.1938.

14 — *Davis, N. C.* — Amer. J. of Hyg. 6(1):110.1926.

15 — *Fonseca, Fl. da & Corrêa, R. F.* — Mem. Inst. Butantan 15:91.1941.

16 — *Simons, J. S.* — Amer. J. of Trop. Med. 17(2):191.1937.

17 — *Fonseca, J. A. B.* — Arq. Hig. Saúde Púb. Est. S. Paulo, (no prélo) 1942.

18 — *Boyd, M. F.* — Amer. J. of Hyg. — Mon. Series (5).1926.

19 — *Nicholls, L.* — Bull. Ent. Res. 3:251.1912.

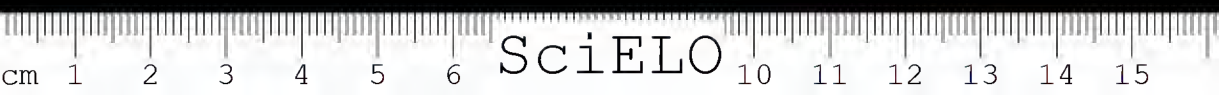
20 — *Pinto, G. de Souza* — Congr. Intern. Palud. — Roma, 1925. In sep. Oficinas Gráficas da Inspet. Demogr. Sanit., Rio de Janeiro — 4.1926

21 — *Godoy, H.; Lobo, A. & Cruz F.º, O.* — C. R. Soc. Biol. 105:731.1930.

22 — *Kumm, H. H. W.* — Ann. Trop. Med. a. Parasit. 20(1):1.1932.

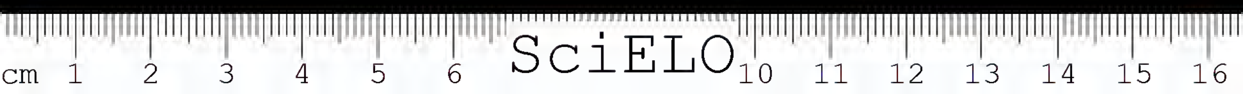
23 — *Coutinho, J. C.* — Brasil-Médico 56(4-5):52.1942.

24 — *In Pinto, Cesar* — Tratado de Artrop. Parasit. etc., edit. Pimenta de Mello, Rio de Janeiro 2:614.1930.



25 — *Benarroch, E. I.* — Amer. J. of Hyg. 14(3):69.1931.
26 — *Davis, N. C.* — Riv. di Malariol. 10(1):43.1931.
27 — *Davis, N. C. & Kumm, H. H. W.* — Amer. J. of Trop. Med. 12(1):93.1932
28 — *Shannon, R. C.* — Proc. Ent. Soc. Wash. 35(7):117.1933.
29 — *Corrêa, R. R.* — Arch. de Hyg. e Saúde Pública, Est. S. Paulo 11(1):40.1941
30 — *Galvão, A. L. A. & Grieco, S. J.* — Rev. Biol e Hig. 11(1):61.1941.
31 — *Fonseca, F. da, Covelli. & Zwinger,*
32 — *Corrêa, R. R. & Ramos, A. S.* — Folia Clin. et Biol. 13(6):183.1941.
33 — *Lucena, D. T.* — Separata da Folha Médica — Setembro, 1940.
34 — *Corrêa, R. R.* — Rev. Biol. e Hig. 9(2):104.1938.
35 — *Galli-Valerio* — Centralbl. f. Bakt. 35(1):85.1904.
36 — *Rozeboon, L. E.; Fox, L. A. & Laird, R. L.* — Science 94(2431):114.1941.
37 — *Rozeboon, L. E. & Laird, R. L.* — Am. J. Trop. Med.22(1):83.1942.
38 — *Pinto, G. de Souza* — Riv. di Mal. 17(6):475.1938.
39 — *Komp, W. H. W.* — An. Ent. Soc. of Am. 34:791.1941.
40 — *Galvão, A. L. A. & Lane, J.* — *In* Livro Jubilar do prof. Lauro Travassos :160.1938.
41 — *Ramos, A. S.* — Arq. de Hig. e Saúde Pública, S. Paulo 7(15):61.1942.
42 — *Unti, O.* — An. Paulista de Med. e Cir. 40(11):377.1940.
43 — *Boyd, M. F. & Cain Jr., T. L.* — Amer. J. of Hyg. 16:832.1932.
44 — *Sinton, J. A.* — Ind. J. of Med. Res. 12(2):341.1924 cit. por F. *in* Riv. di Malar. 12(6):1193.1933.
45 — *Neri, F.* — Dogli appunti del capo — tecnica della stazione sperimentali per la lota antimalarica (Ind. Tip Romana, Roma, 1933).
46 — *Boyd, M. F. & Kitchen, S. F* — Amer. J. of Trop. Med. 17(6):855.1937.
47 — *Boyd, M. F. & Stratman-Thomas, W. K.* — Amer. J. of Hyg. 16(3):845.1932.
48 — *Boyd, M. F.; Carr, H. P. & Rozeboon, L. E.* — Amer. J. of Trop. Med. 18(2):15.1938.
49 — *Prado, A.* — Rev. de Biol. e Higiene 1(2):87.1927.
50 — *Verteuil, E. de* — Trans. Royal Soc. Trop. Med. a. Hyg. 19(4):235.1925 cit. por Covelli, G. — Ind. Med. Res. Mem. (7):85.1927.
51 — *Curry, D. P.* — Amer. J. of Hyg. 15:566.1932.
52 — *Pinto, C.* — Mem. Inst. Oswaldo Cruz 34(3).293.1939.
53 — *Galvão, A. L. A.* — Rev. Biol. e Higiene 9(1):51.1938.

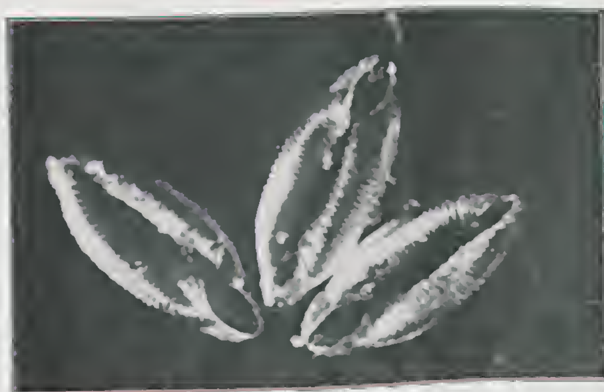
(Trabalho de colaboração da Seção de Parasitologia do Instituto Butantan e da Seção de Entomologia do Serviço de Profilaxia da Malária. Entregue para publicação em 12-10-42 e dado à publicidade em fevereiro de 1943).





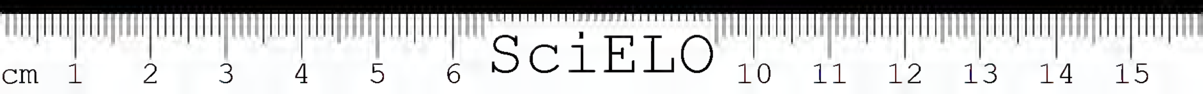
MICROFOTO 1

Ovos de *A. (N.) oswaldoi oswaldoi*

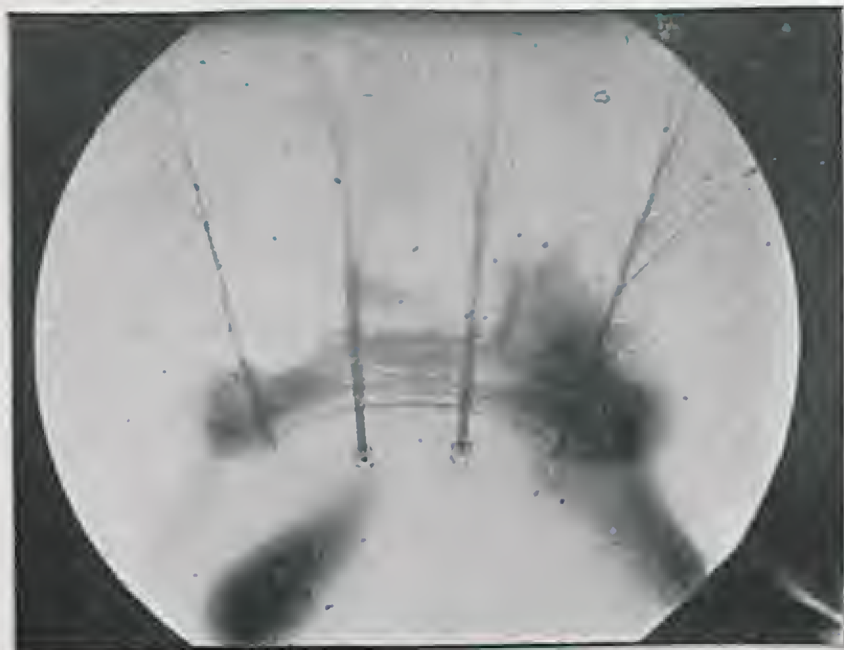


MICROFOTO 2

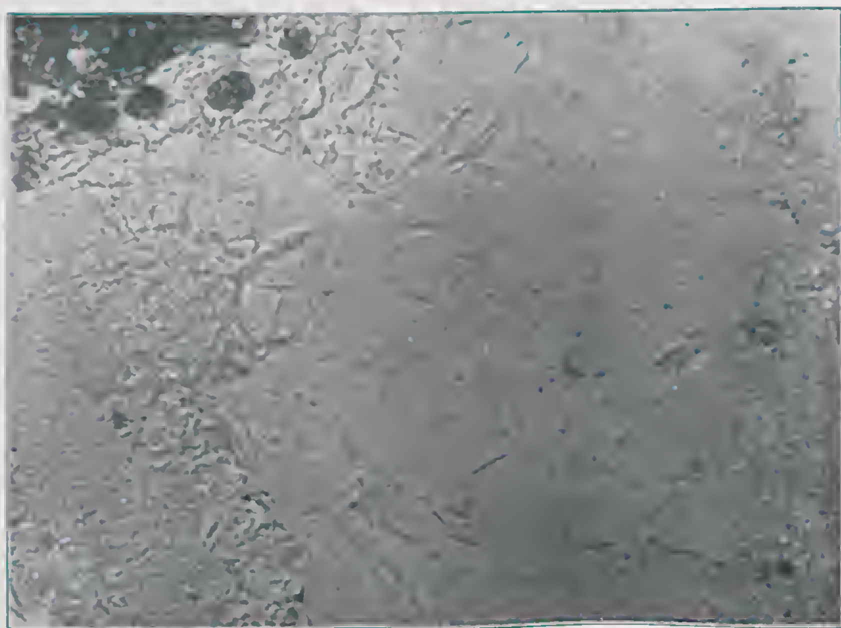
Ovos de *A. (N.) oswaldoi* [illegible]
(segundo R[illegible])


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15

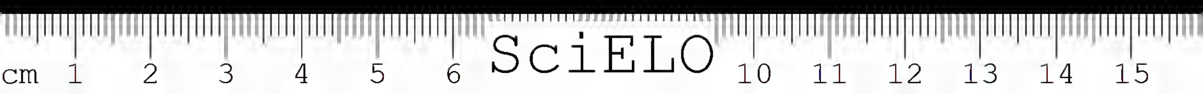
Mem. Inst. Butantan
Vol. XVI 1942

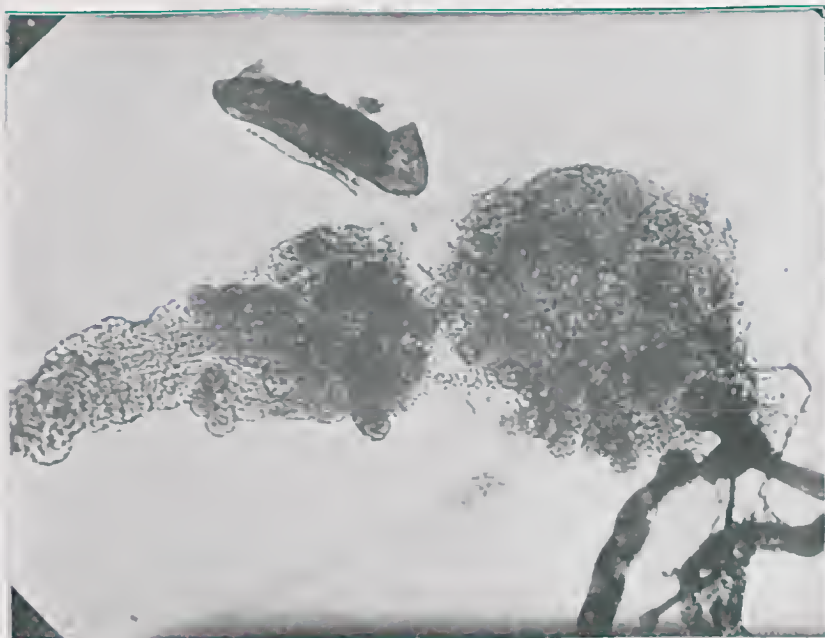


MICROFOTO 3
Clypéo de larva de *A. (N.) oswaldoi guarujaensis*
(segundo Ramos)



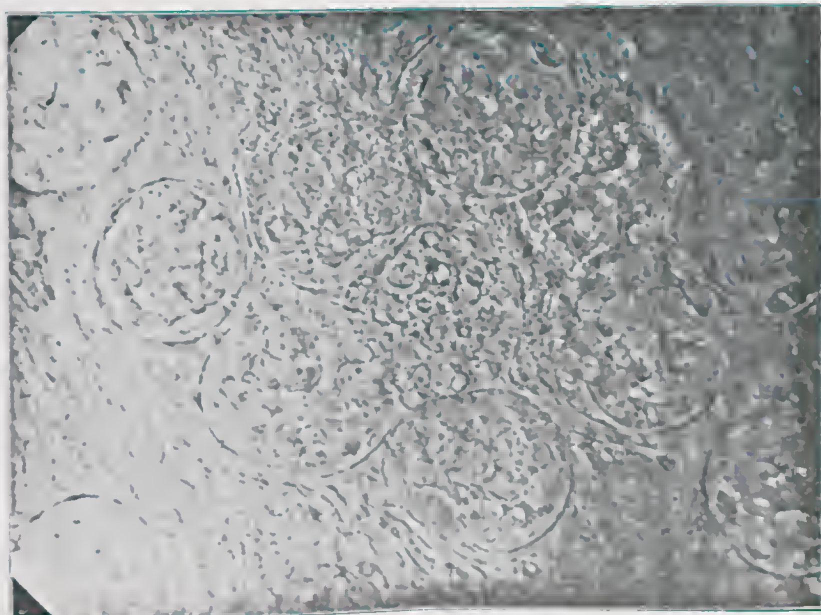
MICROFOTO 4
Exemplar 4 do lote 104. Esporozoítos em glândula salivar de *A. (N.) oswaldoi guarujaensis*


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15



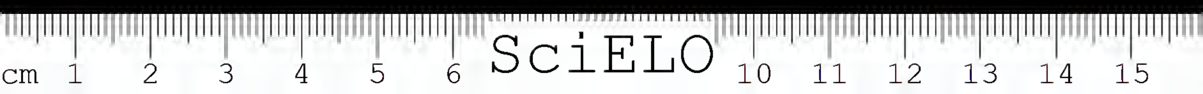
MICROFOTO 5

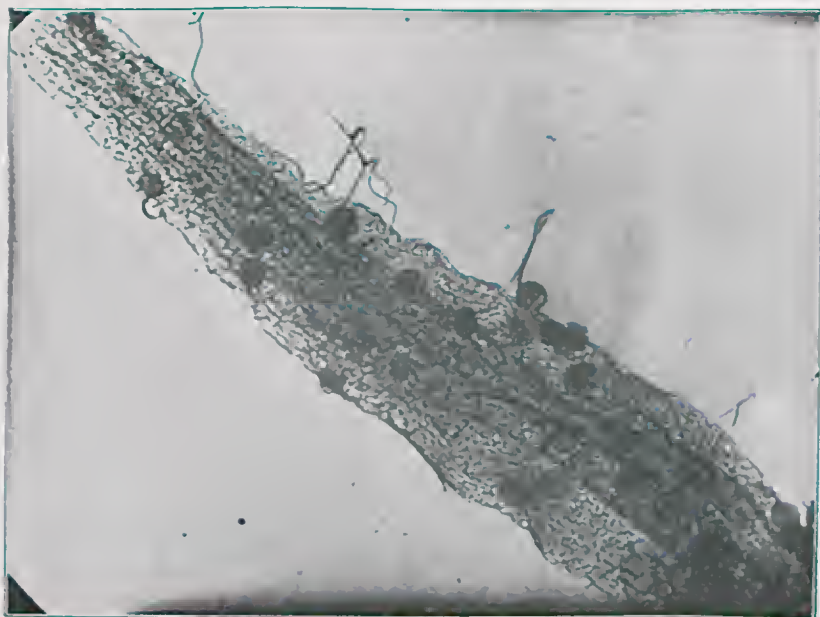
Exemplar 9 do lote 180. Estômago de *A.* (*N.*) *oswaldoi guarujaensis.*



MICROFOTO 6

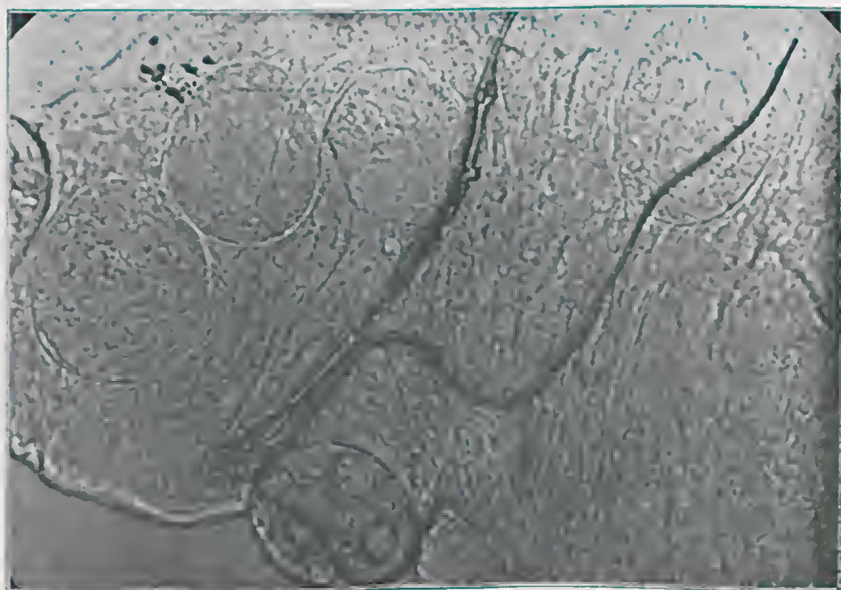
Exemplar 9 do lote 180. Estômago de *A.* (*N.*) *oswaldoi guarujaensis* com oocistos de *Pl. vivax.*


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15



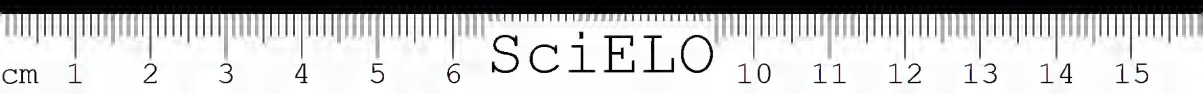
MICROFOTO 7

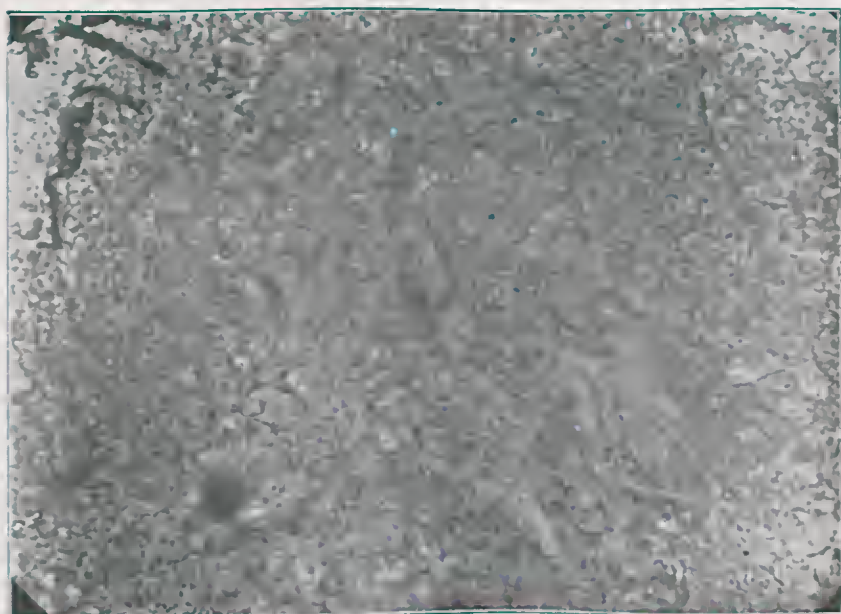
Exemplar 6 do lote 181. Oocistos com 8 dias.



MICROFOTO 8

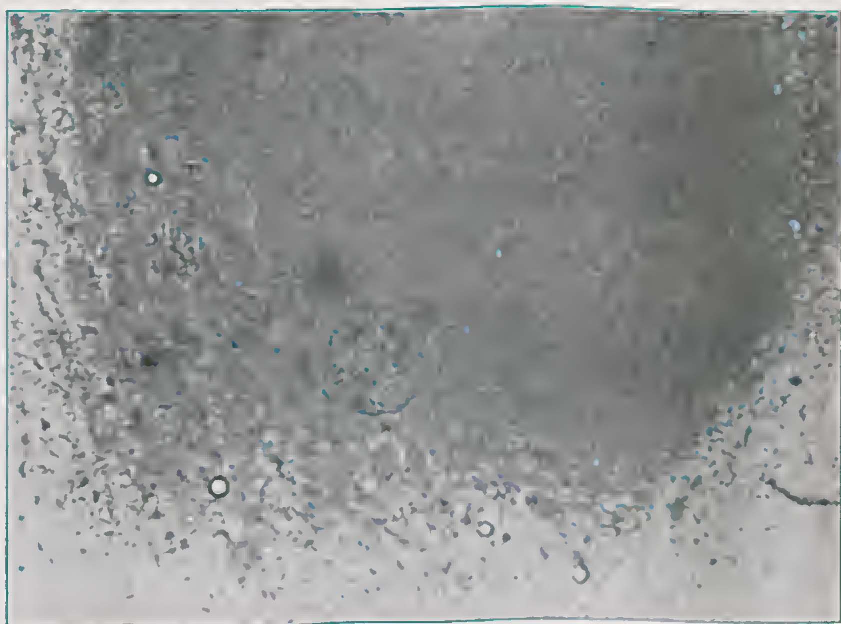
Exemplar 6, lote 181. Oocistos com 8 dias. Esporozoitos visíveis no interior dos oocistos.


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15



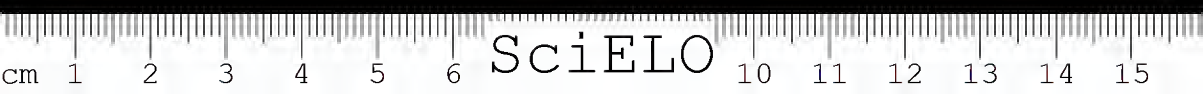
MICROFOTO 11

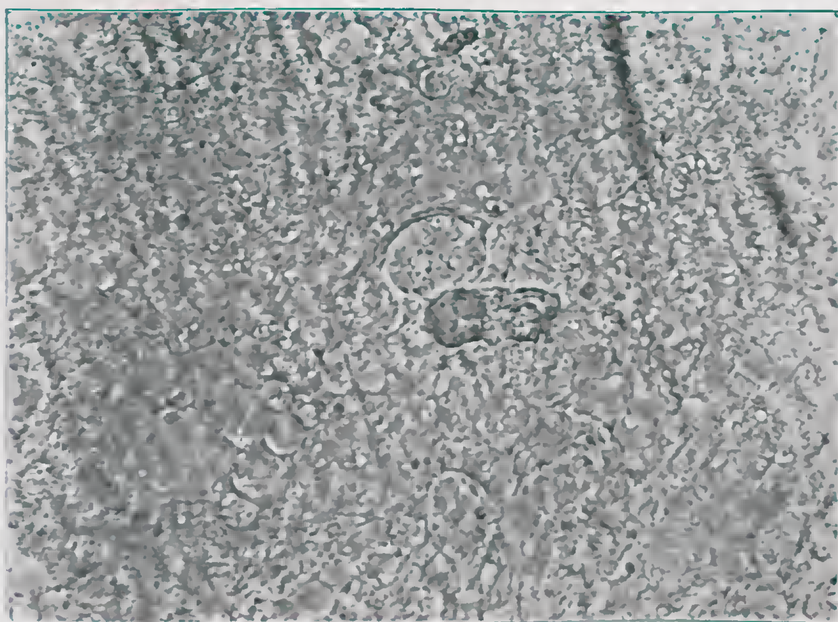
Exemplar 2, lote 84a. *A.* (*N.*) *oswaldoi oswaldoi*. Estômago com oocistos de 12 dias.



MICROFOTO 12

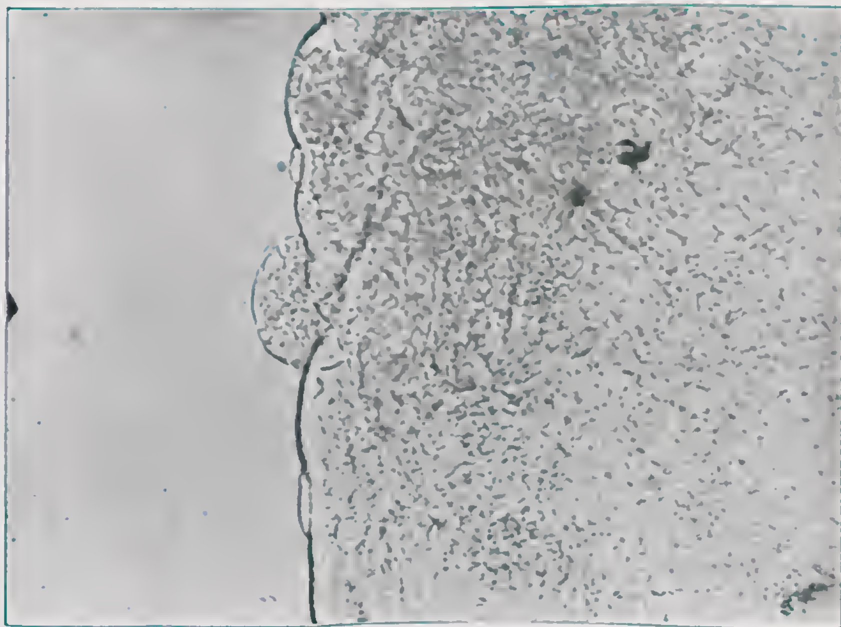
Exemplar 11, lote 84a. Infeção de 20 dias em estômago de *A.* (*N.*) *oswaldoi oswaldoi*.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15



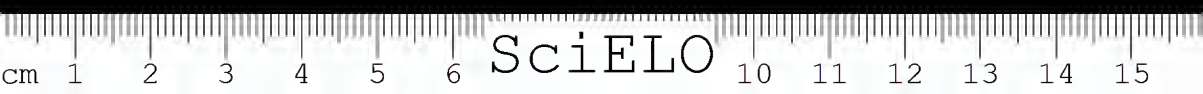
MICROFOTO 13

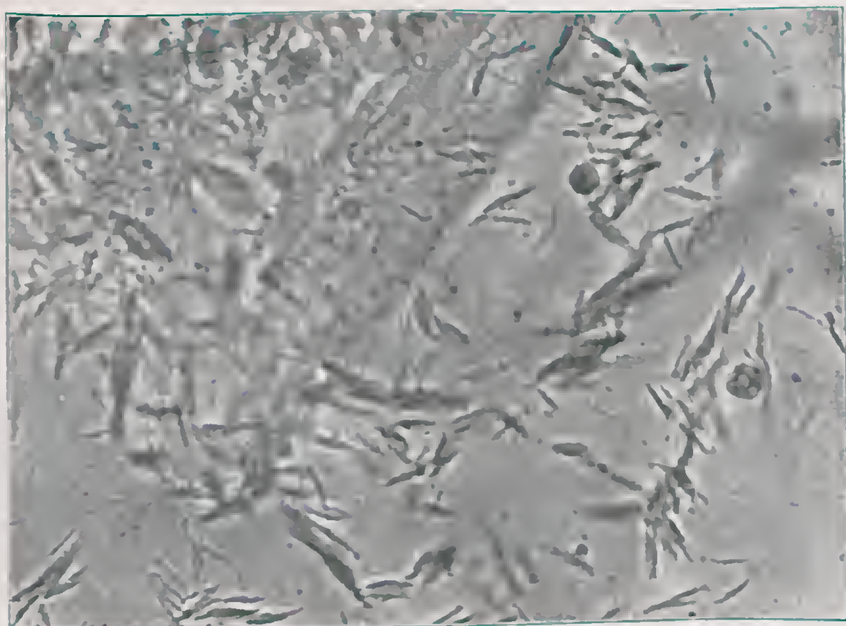
Exemplar 13, lote 88a, um outro caso de infeção retardada. Oocistos com 14 dias.



MICROFOTO 14

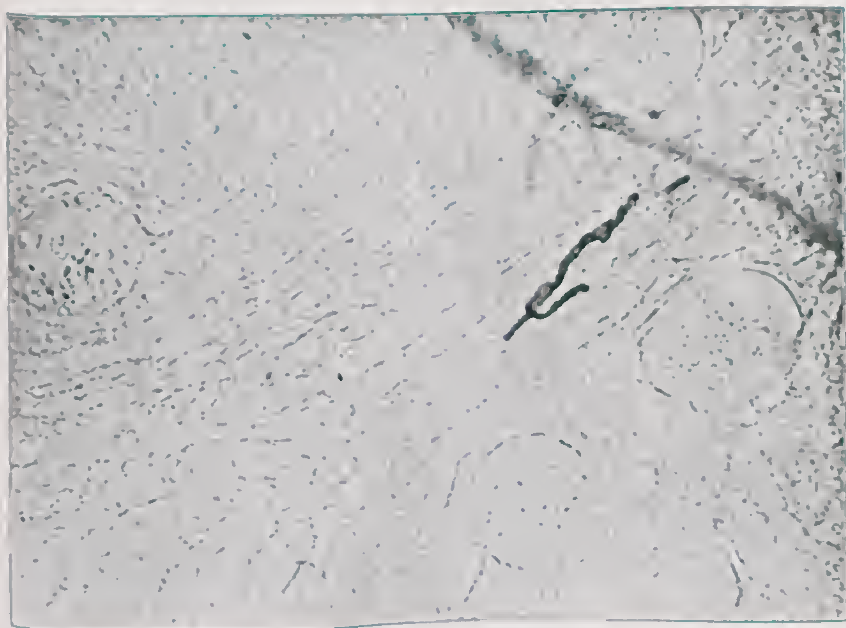
Exemplar 12, lote 104a. Oocisto bastante evoluido.


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15



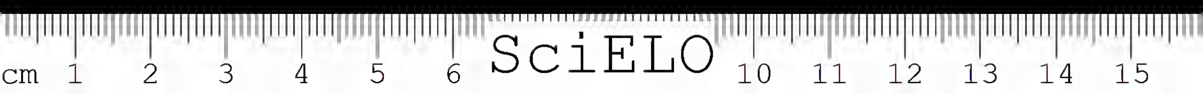
MICROFOTO 15

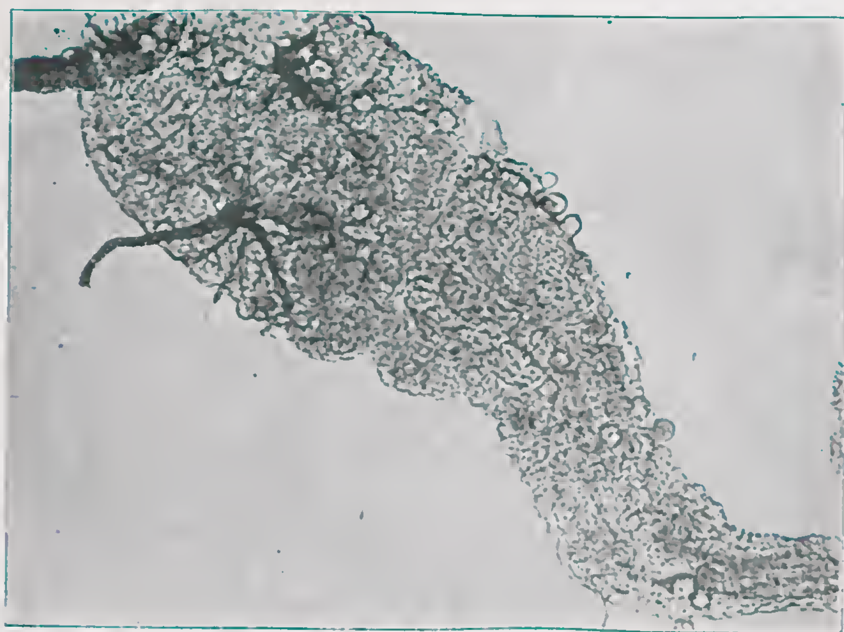
Exemplar 12, lote 104a. Esporozóitos em glândula salivar de *A.* (*N.*) *oswaldoi oswaldoi*, com 15 dias de evolução.



MICROFOTO 16

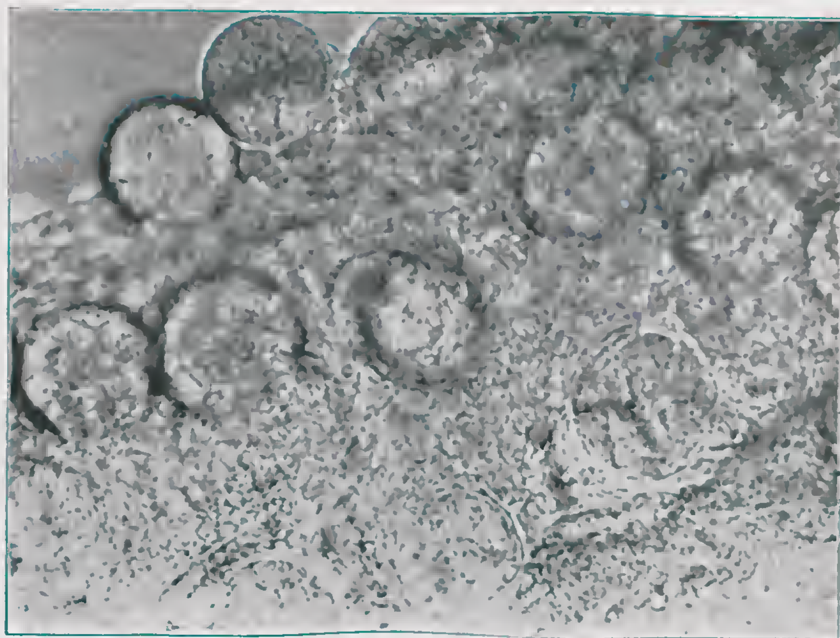
Exemplar 6 lote 180a. Oocistos em fase segmentar depois de 8 dias de incubação.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15



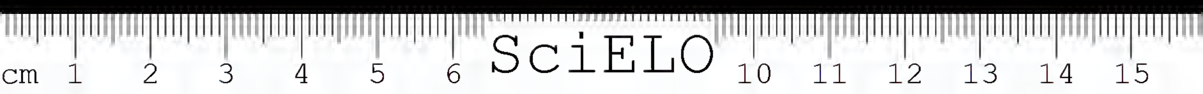
MICROFOTO 17

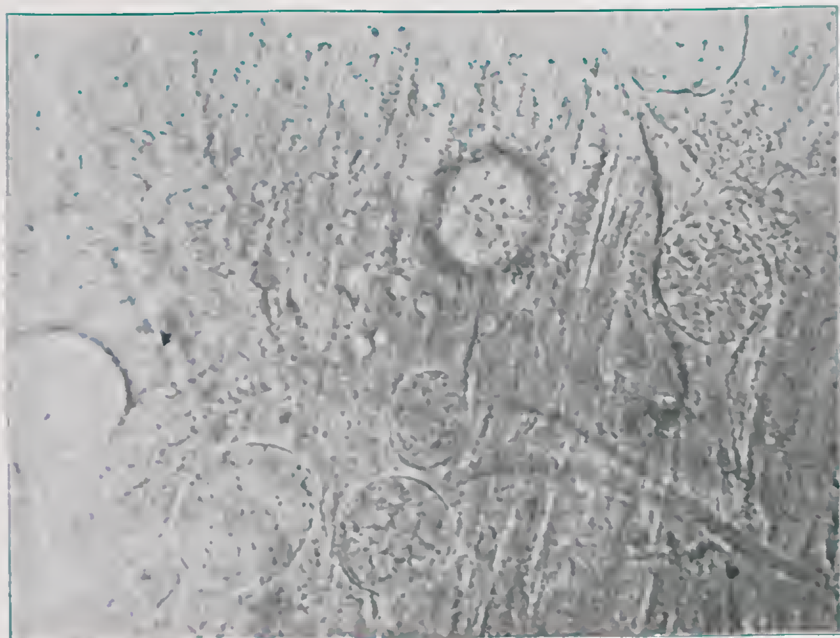
Exemplar 5, lote 194. Estômago altamente parasitado.



MICROFOTO 18

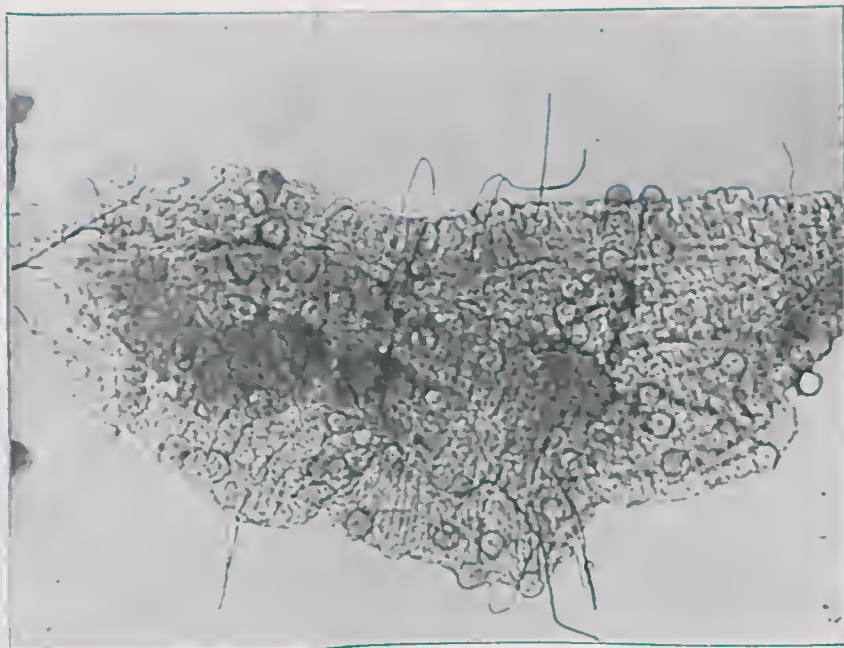
Exemplar 5, lote 194.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15



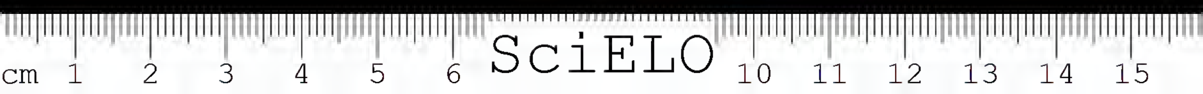
MICROFOTO 19

Exemplar 10, lote 194. Oocistos de uma mesma infeção, atingindo diferentes dimensões.

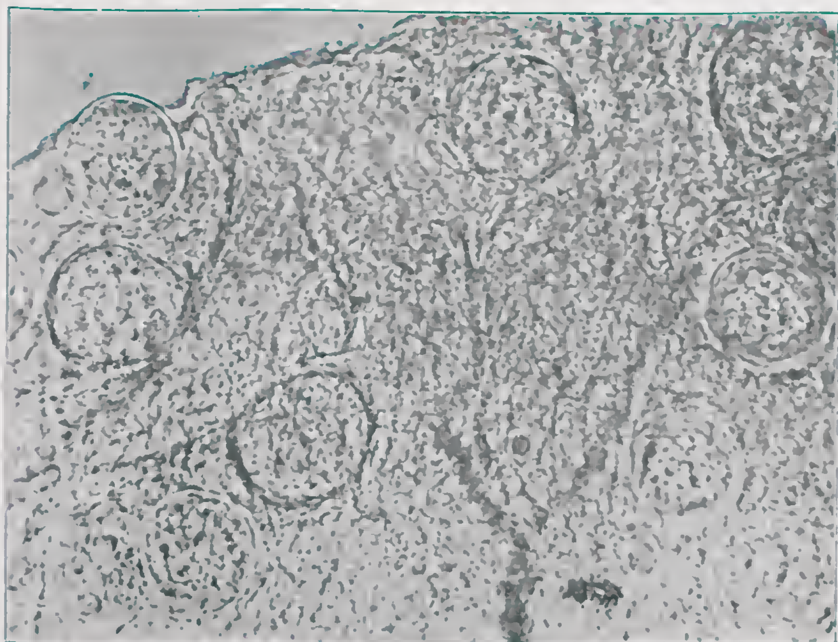


MICROFOTO 20

Exemplar 16, lote 194. Estômago contendo grande numero de oocistos.

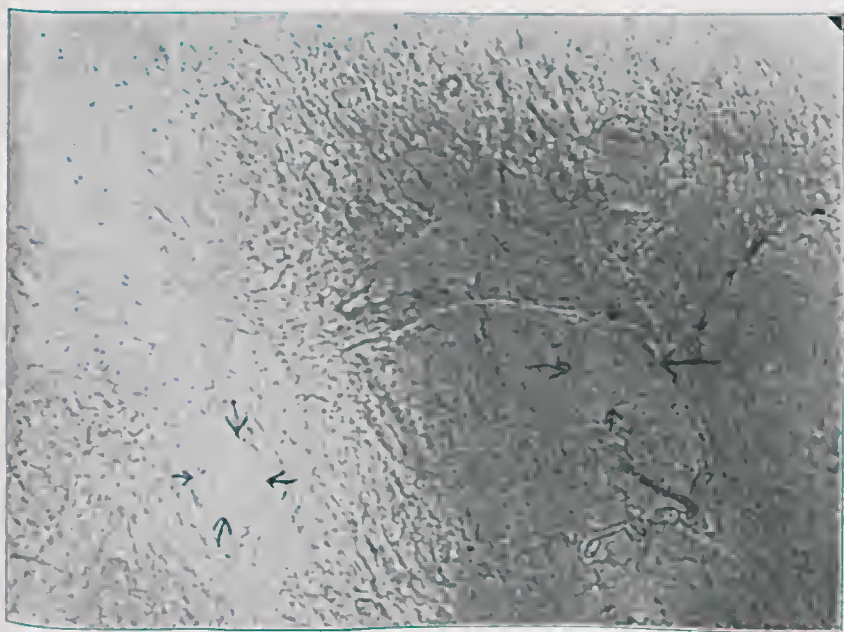

cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15

 Mem. Inst. Butantan
Vol. XVI — 1942



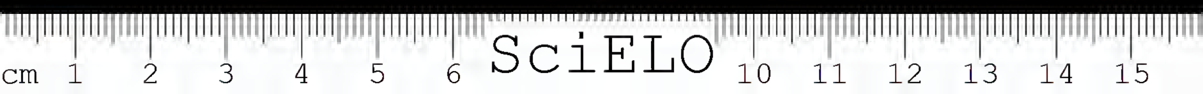
MICROFOTO 21

Exemplar 16, lote 194.



MICROFOTO 22

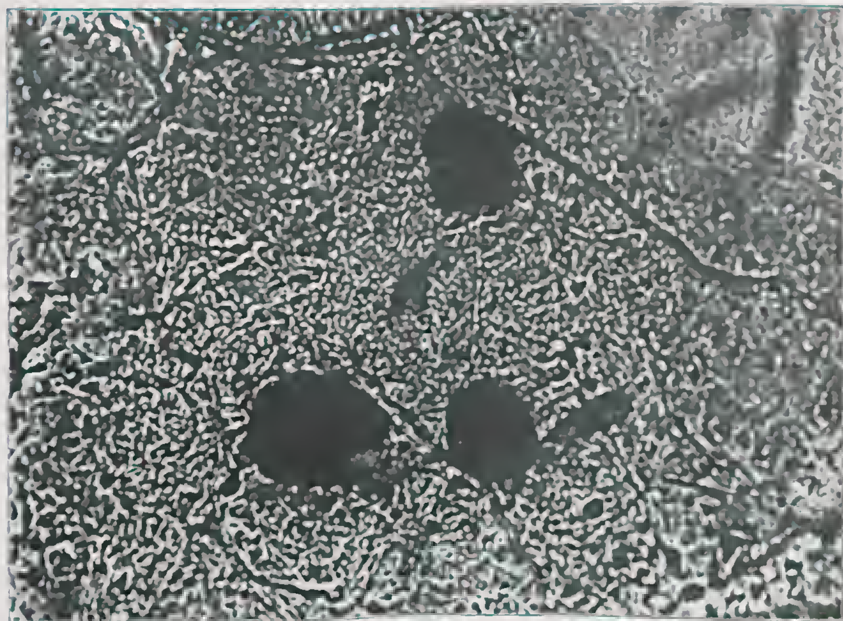
Estômago de *A.* (*N.*) *oswaldoi guarujaensis* encontrado naturalmente infetado.


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15



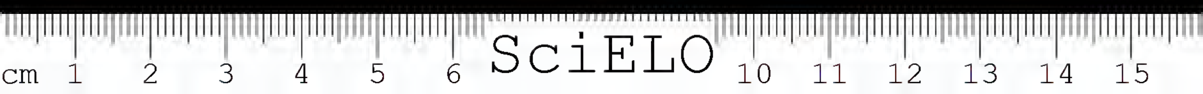
MICROFOTO 23

Exemplar 4, lote 183. Estômago de anofelino encontrado naturalmente infetado; cavidade deixada pelo esvasiamento de oocistos, sendo possivelmente invadida por cogumelos.



MICROFOTO 24

Corpusculos negros em estomago de mosquito infetado experimentalmente, representando provavelmente oocistos invadidos por elementos de contaminação.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15

595.42:616.968.3

NOTAS DE ACAREOLOGIA

XXXIV. Posição do gênero *Liponissus* KOLENATI em face das espécies tropicais; seu desdobramento em novos gêneros (*Acari, Liponissidae*) *

POR

FLAVIO DA FONSECA

Quando em 1935 descrevi cinco novas espécies incluidas no gênero *Liponissus* KOLENATI (1) salientei a necessidade de uma revisão deste gênero, pois várias espécies, entre as quais uma que então descrevia, só forçadamente nele se deixavam enquadrar.

Embora seja realmente de lamentar e provoque de regra protestos menos fundamentados, que espécies de grande importância médica ou conómica cujos nomes são já familiares aos não especializados, como os de *Liponissus bursa* e *Liponissus bacoti*, devam mudar de gênero, êste argumento não pode prevalecer, constituindo obstáculo à evolução da sistemática. Aliás, também Oudemans (2) não o levou em consideração ao incluir implicitamente, em 1936, no seu monumental trabalho de crítica e história da Acareologia, todas as espécies de *Liponissus*, com exceção única da espécie tipo, *setosus*, no gênero *Macronyssus* que então revalidou.

Na verdade o conceito original de *Liponissus* KOLENATI é uma incógnita. Ao contrário do que sucede a outros genotipos de Kolenati, dos quais ainda hoje restam tipos nos museus europeus, é desconhecido o paradeiro dos de *Dermanyssus setosus* KOLENATI, espécie de tipo do gênero *Liponissus*, cuja descrição é deficiente demais para que se possam reconhecer os caracteres genéricos.

Por um consenso unânime dos especialistas, impossibilitados de reconhecer os caracteres dos gêneros de Kolenati (*Macronyssus, Lepronyssus, Liponissus,*

(*) Trabalho reproduzido do vol. 2(6-7):262-265.1941 de "Ciencia" (México) por não ter sido apresentada a diagnose dos gêneros em lingua de Congresso, como fora pedido à Redação.

Ichoronyssus, *Pimelonyssus* e *Steatonyssus*), devido à insuficiência das des
ções originais, foram êles durante muitos anos considerados sem outra ra
sinónimos de *Liponissus* e como tal tratados por Stanley Hirst em 1921 (
O valioso trabalho de Hirst, redescrevendo vários cotipos de espécies de Kole
existentes no Museu Britânico, teve o mérito de chamar a atenção dos es
cialistas para as diferenças entre *Liponissus* tomado na acepção moderna e
rios dos gêneros de Kolenati, determinando que Ewing, em 1923 (4) revalida
o gênero *Ichoronyssus* KOLENATI [*non* HIRST, 1915 (5)], dando-lhe como
notipo *Ichoronyssus scutatus* (KOLENATI). No mesmo ano criava Ewing
o gênero *Ceratonyssus* EWING, que Vitzthum, em 1931 (6), demonstrou
sinónimo de *Steatonyssus* KOLENATI, tendo como tipo *Steatonyssus periblep*
rus KOLENATI [sin.: *Dermanyssus musculi* KOCH, *Ceratonyssus mus*
(KOCH) EWING]. Vitzthum, em 1931, (*loc. cit.*) reconheceu que o gên
Pimelonyssus KOLENATI foi erigido baseado na descrição de protoninfas,
vendo, portanto, desaparecer. Na opinião externada por Oudemans em 1
(2) é êste último o único dos gêneros de *Liponissidae* criados por Kolenati
não pode ser mantido. A seguirmos a opinião de Oudemans devemos, p
aceitar como também válido o gênero *Lepronyssus* KOLENATI, com as esp
Lepronyssus leprosus KOLENATI (sp. tipo), *Lepronyssus flavus* (KOLENA
[sin.: *Liponyssus lobatus* OUDEM. (= *Dermanissus lobatus* KOLENATI?),
Hirst, 1921], cuja caraterística mais acentuada seria a do aspecto escamoso
placa genital. Abstraído êste caráter e talvez o do aspecto idêntico do esc
dorsal (êste não referido por St. Hirst ao redescrever material tipo de K
nati), ha praticamente coincidência com o gênero *Ichoronyssus* KOLENATI, co
aliás já deixou entrever Vitzthum (*loc. cit.*) e como se depreende também
divisão do escudo holoventral do ♂ de *Lepronyssus flavus*. Restaria, pois,
cidir a validade dos gêneros *Macronyssus* KOLENATI e *Liponissus* KOLENA
sôbre os quais o último a opinar foi Oudemans, em 1936, no seu Kritish H
torisch Overzicht der Acarologie(2), no qual diz o seguinte:

> "*Macronyssus* wordt door Kolenati in zijn Synopsis prodro
> der ... *Carida* (*in*: Wien. ent. Mntschr., V.2 fa. 1 p. 5; I. 18
> vóór *Liponissus* genoemd, heeft dus de prioriteit. *Macronyssus*
> 2 soorten: *longimanus* en *lepidopeltis*, beide later, m.i. ten onrec
> *Liponyssus* genoemd. Het is nog zeer de vraag, of *Liponyssus*
> als synoniem von *Macronyssus* mag aangezien worden; want *Li*
> *nyssus setosus* (monotype!) is een totaal afwijkende soort. Ik
> ervan overtuigd, dat, met uitzondering van *Pimelonyssus* (rug i
> parten verdeeld: nymphae!) alle genera van Kolenati goede gen
> zijn."

Conclue-se da opinião de Oudemans que reconhece em *Liponissus* e *Macronyssus* dois gêneros distintos, julgando, entretanto, que as espécies descritas como *Liponissus* pelos autores modernos correspondem antes a *Macronyssus*, pois é neste gênero que as inclue em sua obra, considerando *Liponissus setosus* (Kol.) espécie totalmente diferente. Que outras espécies corresponderiam ao verdadeiro *Liponissus*, de que *Liponissus setosus* (Kolenati) é o tipo, não diz.

Ora, Hirst, em 1921 (3), descreveu o macho do genotipo *Macronyssus longimanus* (Kolenati), proveniente de material tipo de Kolenati, dêle apresentando uma ótima figura da face ventral. Pelo exame dêste documento verifico que a placa holoventral do ♂ (Fig. 1) entre o 4.º par de patas e a sua porção anal, difere completamente da placa holoventral das espécies a que hoje os autores chamam *Liponissus*, tais como *L. bacoti* (Hirst), *L. aethiopicus* Hirst, *L. bursa* Berlese, *L. nagayoi* Yamada, *L. brasiliensis* Fonseca (Fig. 2), para citar só aquelas cujos ♂ ♂ são conhecidos. De fato, a placa holoventral do alotipo ♂ de *Macronyssus longimanus* alarga-se consideravelmente logo para trás do 4.º par de patas, não apresentando a constrição observada no limite com a porção anal, tal como as espécies tropicais acabadas de citar, sendo, além disso, a anal limitada da zona ventral por uma linha inexistente nas espécies referidas.



Fig. 1
Placa holoventral do alotipo de *Macronyssus longimanus* (Kolenati), seg. Hirst.



Fig. 2
Placa holoventral do ♂ de *Bdellonyssus brasiliensis* (Fonseca).

A conclusão a tirar é. pois, a meu vêr, a de que *Macronyssus* corresponde a espécies distintas daquelas espécies modernas, cujos ♂♂ são conhecidos. Afigura-se-me mais provável que as fêmeas de *Macronyssus* apresentem o aspecto observado na placa genital de *L. ellipticus* (KOLENATI), segundo a figura de Hirst à p. 795 (3), i.é, tenham genital larga na extremidade posterior. caráter que levou êste autor (*loc. cit.*) a julgar provável a sinonimia de *L. ellipticus* com *L. longimanus*.

Não acompanharei, portanto, Oudemans na inclusão no gênero *Macronyssus* de todas as espécies hoje denominadas *Liponissus*: reservarei *Macronyssus* KOLENATI para as espécies cujas fêmeas tenham genital não afilada, com um só par de cerdas, de superfície lisa. não escamosa (*Lepronyssus!*), tibias dos 1.° e 2.° pares de patas longas, sem outro espinho nas coxas além do dorsal da coxa II e cujos machos apresentem a zona do holoventral situada entre as coxas IV e anal. dilatada e sem estrangulamento. Além de *Macronyssus longimanus* (KOLENATI) e de *Macronyssus ellipticus* (KOLENATI) não conheço outra espécie que reuna estas carateristicas.

Si *Macronyssus, sensu* KOLENATI, difere de *Liponissus* KOLENATI, como me parece provável, restaria agora decidir si *Liponissus, sensu* KOLENATI, corresponde à concepção moderna deste gênero, isto é, si a espécie tipo *Liponissus setosus* (KOLENATI) representa um *Liponissidae*, cujas fêmeas tenham placa genital afilada, com um só par de cerdas, esternal com três pares de cerdas. sem grande alongamento da extremidade posterior da anal (*Manitherionyssus* VITZTHUM!), tal como as espécies *bursa, bacoti, aethiopicus, venezolanus, nagayoi, eruditus, iheringi, hirsti, haematofagus, brasiliensis. lutzi. oudemansi* e *monteiroi*. Sendo impossível decidir esta questão com o auxilio das descrições de Kolenati, as quais, como é natural. são deficientes. e sendo desconhecido o paradeiro do material tipo de *Liponyssus setosus* (KOLENATI). pareceria que a solução do problema deveria ficar protelada até a descoberta dos tipos dêste autor ou até que o conhecimento perfeito da fauna do hospedeiro tipo capturado na localidade tipo, na Servia, viesse a demonstrar a existência de uma espécie que justificasse o nome especifico *setosus* (*dichtborstige Fledermauszecke*, como a chama Kolenati). Sucede, entretanto, que das espécies européias até hoje descritas no gênero *Liponissus* nem uma só apresenta caractéres das espécies tropicais acima enumeradas (as espécies norte-americanas são ainda insuficientemente descritas). Seria grande coincidência que justamente *Liponyssus setosus* viesse a fazer exceção, apresentando caractéres coincidentes com os das espécies tropicais.

Si os *Liponissus* (*sensu lato*) tropicais constituem um grupo naturalmente distinto das espécies européias até hoje incluidas neste gênero; si os caracteres de *Liponissus, sensu* KOLENATI, são desconhecidos; si *Liponissus setosus*, es-

pécie tipo do gênero *Liponissus* KOLENATI, é espécie européia, sendo, portanto, pouco provável que possa ser grupada junto às espécies tropicais; si a concepção genérica dos *Liponissidae* de Kolenati era de ereção de gêneros restritos e si esta concepção tende modernamente a ser restabelecida pelo reconhecimento dos gêneros de Kolenati e pela aceitação de outros gêneros, tal como *Leiognathus* CANESTRINI, baseados em caracteres também restritos; parece que se impõe a ereção de um gênero que inclua as espécies tropicais acima enumeradas e que tão naturalmente se diferenciam das restantes, inclusive por caracteres zoogeográficos.

Proponho para êste grupo de *Liponissidae*, devido ao intenso hematofagismo exercido pelos seus membros, o nome de

Bdellonyssus, gen. n.

Diagnose. *Liponissidae;* esternal com 3 pares de cerdas e 2 pares de poros; genital de extremidade posterior afilada, de superfície não escamosa e com um só par de cerdas; escudo dorsal da ♀ indiviso; coxas sem espinhos ventrais; tibia I maior do que 1½ vêzes a sua maior largura; idiosoma sem constrição entre o podosoma e o histerosoma; 1.° artículo dos palpos com espinho ou sem êle. Escudo holoventral do ♂ indiviso e não dilatado na zona gênito-ventral.

Sinónimos: *Liponissus* KOLENATI, *pro parte; Macronyssus* KOLENATI, *pro parte*.

Genotipo: *Bdellonyssus bacoti* (HIRST, 1913). Escolhemos esta especie como genotipo não só por estarem os seus tipos convenientemente preservados no Museu Britânico, como também por ser ela uma das melhor conhecidas e das mais importantes, pois é parasita também da espécie humana, o que, aliás, também é o caso para as espécies *nagayoi*, *brasiliensis* e *bursa*.

Caberão neste gênero as seguintes espécies:

1. *Bdellonyssus bursa* (BERLESE, 1888)
2. *Bdellonyssus bacoti* (HIRST, 1913)
3. *Bdellonyssus aethiopicus* (HIRST, 1921)
4. *Bdellonyssus nagayoi* (YAMADA, 1930)
5. *Bdellonyssus venezolanus* (VITZTHUM, 1931)
6. *Bdellonyssus eruditus* (FONSECA, 1935)
7. *Bdellonyssus iheringi* (FONSECA, 1935)
8. *Bdellonyssus hirsti* (FONSECA, 1935)
9. *Bdellonyssus haematophagus*, (FONSECA, 1936)
10. *Bdellonyssus brasiliensis* (FONSECA, 1939)
11. *Bdellonyssus lutzi* (FONSECA, 1941)
12. *Bdellonyssus monteiroi* (FONSECA, 1941)
13. *Bdellonyssus oudemansi* (FONSECA, 1941)

E' possível que algumas das espécies norte-americanas de Banks e de Ewing possam ainda vir a ser incluidas neste gênero, não permitindo por ora as suas descrições, por muito sucintas, determiná-lo com precisão.

Não são incluidas no novo gênero *Bdellonyssus* as espécies brasileiras *pereirai* e *wernecki*, originalmente descritas no gênero *Liponissus*, pelos motivos que passo a expor.

Liponissus wernecki FONSECA, 1935, encontrada sôbre *Didelphys aurita*, *Didelphys paraguayensis* e *Marmosa* sp., especializada, portanto, no parasitismo de Didelfídeos, o que já constitue fato singular entre os *Liponissidae*, apresenta notável encurtamento da tíbia II e arqueamento pronunciado dos ombros, tal como os representantes do gênero *Ichoronyssus* KOLENATI, do qual difere por não ser encurtada a tibia I pela falta de divisão no escudo holoventral dos machos e pela existência, em todas as fases do ciclo evolutivo, exceto na larva, de um espinho ventral na coxa I com um pêlo implantado, caráter que a distingue do gênero *Neoliponyssus* HIRST. Para esta espécie erijo o seguinte gênero:

Neoichoronyssus, gen. n.

Diagnose: *Liponissidae;* esternal com dois pares de cerdas; coxa I com espinho; tíbia II com comprimento menor do que 1½ vêzes a sua largura; ombros pronunciados. Escudo holoventral do ♂ e escudo dorsal do ♂ e da ♀ indivisos.

Genotipo: *Liponissus wernecki* FONSECA, 1935.

Liponissus pereirai FONSECA, 1935, espécie aberrante, parasita de ratos e de *Kerodon spixi* do Nordeste brasileiro, apresenta de caraterístico a existência de um órgão infundibuliforme na placa esternal e lembra, pelo aspecto escamoso da genital, o gênero *Leprouyssus* KOLENATI, razão pela qual proponho para ela o novo gênero

Lepronyssoides, gen. n.

Diagnose. *Liponissidae;* esternal com 3 pares de cerdas e um órgão simétrico infundibuliforme; placa genital de superfície escamosa e com um único par de cerdas. Genotipo: *Liponissus pereirai* FONSECA, 1935.

Êste gênero se distingue de *Liponysella* HIRST, gênero monotípico, porque em *Liponysella sternalis* (HIRST) ha três pares de cerdas na placa genital, a qual, aliás, não é afilada como em *Lepronyssoides pereirai* (FONSECA).

ABSTRACT

The genus *Liponissus* KOLENATI has *Liponissus setosus* (KOLENATI) as genotype, which according to Oudemans is totally different from the species usually placed in the genus *Liponissus*. These species ought, in the opinion of Oudemans, to be transferred to the genus *Macronyssus* KOLENATI, the genotype of which is *Macronyssus longimanus* (KOLENATI).

In the genus *Macronyssus*, however, the genital plate of the female and the holoventral of the male are different from the same plates in the tropical species (Figs. 1 and 2), as can be seen from the drawings of Hirst (1921), who worked with Kolenati's H. type material. Thus the tropical species of *Liponissus*, *bursa*, *bacoti*, *aethiopicus*, *nagayoi*, *venezolanus*, *eruditus*, *iheringi*, *hirsti*, *haematophagus*, *brasiliensis*, *lutzi*, *monteiroi* and *oudemansi* form a homogeneous group, distinct from the genera of Kolenati, for which the new genus *Bdellonyssus* is proposed, on account of the intense haematophagism of its species.

Diagnosis of *Bdellonyssus*, n. gen.: *Liponissidae*; sternal plate with 3 pairs of setae and 2 pairs of pores; genital plate with pointed posterior end and unscaled surface, with only one pair of setae; dorsal shield of the male and female undivided; coxae without ventral spines; tibia I larger than 1½ times its breadth; idiosoma without constriction between the podosoma and the hysterosoma; first joint of the palps with or without spine; holoventral shield of the male undivided and not widened on the genito-ventral zone. Genotype: *Liponissus bacoti* (HIRST, 1913).

For *Liponissus wernecki* FONSECA, 1935, parasite of the neotropic marsupialia, a new genus, *Neoichoronyssus*, is proposed.

Diagnosis of *Neoichoronyssus*, n. gen. — *Liponissidae*; sternal plate with two pairs of setae; coxa I bearing ventral spine; tibia II shorter in length than 1½ times its width; pronounced shoulders; holoventral shield of the male and dorsal shield of the male and female undivided. Genotype: *Liponissus wernecki* FONSECA, 1935.

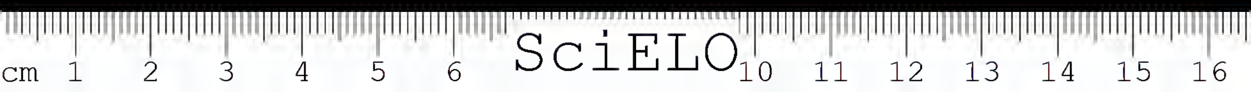
For *Liponissus pereirai* FONSECA, 1935, the new genus *Lepronyssoides* is proposed.

Diagnosis of *Lepronyssoides*, n. gen. — *Liponissidae*; sternal plate with three pairs of setae and one symmetrical, infundibuliform organ; genital plate with scaled surface and bearing one single pair of setae. Genotype: *Liponissus pereirai* FONSECA, 1935.

BIBLIOGRAFIA

1. *Fonseca, F. da* — Mem. Inst. Butantan 9: 43.1935.
2. *Oudemans, A. C.* — Kritisch Historisch Overzicht der Acarologie III A : 275.1936
3. *Hirst, S.* — Proc. Zool. Soc. London : 769.1921
4. *Ewing, H. E.* — Proc U. S. Nat. Mus. 62(13) : 1.1923.
5. *Hirst, S.* — Proc. Zool. Soc. London : 383.1915.
6. *Vitzthum, H. Graf* — Ztschr. f. Parasitenk. usw. 4(1) :1.1931.

(Trabalho da Seção de Parasitologia do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 12-10-42 e dado à publicidade em fevereiro de 1943).



595.122

TREMATÓIDES DE OFÍDIOS

Liophistrema pulmonalis, n. g., n. sp.
Liophistreminae, n. subfam.
Westella sulina, n. g., n. sp.
(*Plagiorchiidae*)

POR

PAULO DE T. ARTIGAS; JOSÉ M. RUIZ & ARISTOTERIS T. LEÃO

Estudando o material helmintológico da coleção do Laboratório de Parasitologia do Instituto Butantan, encontramos os trematóides que servem de assunto para o presente trabalho.

O material proveniente da necrópsia No. 680 (Lâminas No. 2.444), realizada em 4/4/935, era constituido por numerosos trematóides do pulmão de *Liophis miliaris* (L.). Esta cobra fora retirada do cobril do Instituto, razão por que permanece desconhecida a origem geográfica do material parasitológico. Todavia, no correr deste ano, tivemos ocasião de encontrar, de novo, o mesmo parasito em mais necrópsias do mesmo ofidio, *Liophis miliaris* (L.), todos espécimes recebidos dos Estados do Rio Grande do Sul e Paraná. No decorrer destas últimas necrópsias, foi então possivel observar em vida o parasito e apreciar com nitidez a bolsa do cirro e a vesícula excretora.

Verificamos, desde logo, que o trematóide em observação se enquadrava na complexa família *Plagiorchiidae* LÜHE, 1901. Os caraterísticos morfológicos do parasito, porém, não se ajustavam aos numerosos gêneros dessa extensa família, sobretudo pela posição do poro genital. Por esta razão, pareceu-nos acertado estabelecer um novo gênero para esta nova espécie de trematóide, para a qual propomos respectivamente as denominações: *Liophistrema*, n. g., e *Liophistrema pulmonalis*, n. sp.. Os mesmos motivos supra referidos determinaram igualmente a proposta de uma nova subfamília, com o nome de *Liophistreminae*, n. subfam..

O material da necrópsia No. 3.192, feita em 7/5/941, correspondendo a um exemplar de *Philodryas schottii* (SCHLEGEL), proveniente de Tuparaí, Rio

Grande do Sul, constituido por numerosos exemplares de trematóides encontrados na cavidade bucal e esôfago, também foi considerado como formando uma nova espécie para a qual foi necessário estabelecer um novo gênero.

A forma e disposição da bolsa do cirro e a situação do poro genital, entre outras particularidades morfológicas, foram os elementos essenciais para a ereção do gênero *Westella*, denominação esta dada em honra a West.

Liophistrema, n. g.

Diagnose genérica:

Plagiorchiidae: Corpo claviforme com maior largura na metade anterior. Cutícula espinhosa. Ventosa oral maior que o acetábulo, que é pre-equatorial. Esôfago curto. Cecos alcançando o terço posterior do corpo. Testículos arredondados, lisos, com campos e zonas muito próximos, situados no terço médio do corpo. Bolsa do cirro medianamente desenvolvida, contendo vesícula seminal mais ou menos enovelada e cirro tubular inerme. Poro genital post-acetabular próximo deste órgão e ao lado da linha mediana do corpo. Ovário arredondado liso, pre-testicular. Glândula de Mehlis e receptáculo seminal presentes. Útero desenvolvido, com numerosas alças irregulares atingindo a extremidade posterior do corpo. Vagina tubular, delgada. Vitelinos dorsais, intra-cecais e cecais, formados por numerosos cachos de ácinos volumosos, se estendendo desde a região pre-ovariana e post-acetabular até pouco além da zona testicular. Vesícula excretora em forma de Y com o ramo impar muito curto. Parasito do pulmão de ofídio.

Espécie tipo: *Liophistrema pulmonalis*, n. sp.

O presente gênero apresenta como caráter diferencial a situação do poro genital, caráter que, por si só, o afasta dos gêneros conhecidos e enquadrados na família *Plagiorchiidae*. A forma do corpo lembra *Glossidiella* Travassos 1927; os vitelinos são semelhantes aos de *Opisthogonimus* Lühe, 1900.

Liophistrema pulmonalis, n. sp.

(Figs. 1, 2, 3)

Diagnose específica:

Liophistrema: Corpo de tamanho avantajado, alongado e claviforme, extremidade anterior arredondada e muito mais larga que a posterior; comprimento variando entre 9.310 a 17.290mm; largura ao nivel do acetábulo entre 1.330 (

2,660mm. Cutícula revestida de espinhos principalmente na extremidade anterior onde atingem um comprimento próximo de 0,030mm. Ventosa oral subterminal, voltada para a face ventral, circular, com um diâmetro de 0,931 a 1,729mm. Pre-faringe com 0,053 a 0,239mm. Faringe musculoso, envolto por células de natureza glandular, medindo 0,172 a 0,266mm no sentido do comprimento por 0,345 a 0,399mm no sentido da largura. Esôfago curto, atingindo o máximo de 0,452mm de comprimento. Cecos simples, de comprimento desigual, terminando a 1,729 a 3,325mm da extremidade posterior do corpo. Testículos arredondados ou ligeiramente piriformes, lisos, equatoriais, com os campos e zonas muito próximos, sub-iguais e com um diâmetro que varia entre 0,345 a 0,585mm. Vasos eferentes unindo-se ao nivel da base da bolsa do cirro. Esta é um órgão tubular de mediano desenvolvimento, situado obliquamente entre o acetábulo e o ovário; mede 0,665 a 1,197mm de comprimento, tendo uma largura próxima de 0,160mm; contem vesicula seminal tubular, sinuosa, às vêzes enovelada, seguida de longo *ductus* e cirro tubular e inerme. Poro genital lateral e post-acetabular. Aberturas masculina e feminina contíguas. Ovário arredondado, liso, para-mediano, pre-testicular, medindo de 0,425 a 0,585mm de diâmetro. Receptáculo seminal geralmente alongado, imediatamente abaixo do ovário, com dimensões variáveis, medindo de 0,345 a 0,532mm de comprimento por 0,159 a 0,266mm de largura. Glândula de Mehlis para-ovariana. Útero extremamente sinuoso e desenvolvido, ocupando toda a metade posterior do corpo; o ramo ascendente é bem dilatado antes de se diferenciar em vagina. Esta é um órgão tubular, delgado, medindo de 0,532 a 0,931mm de comprimento. Ovos numerosos, de casca delgada, operculados, medindo 0,025 a 0,030mm de comprimento por 0,014 a 0,019mm de largura. Vitelinos dorsais, intra-cecais, formados por ácinos volumosos reunidos em cachos, estendendo-se da região pre-ovariana à região post-testicular, ocupando todo o terço médio do corpo em extensão. Vesicula excretora em forma de Y com o ramo impar muito curto.

Hospedeiro tipo: *Liophis miliaris* (L). Nome vulgar: "Cobra dágua".

Habitat: Pulmão

A descrição e medidas de *Liophistrema pulmonalis*, n. sp., foram baseadas em dez exemplares cotipos fichados sob o No. 2.444 na coleção da Seção de Parasitologia do Instituto Butantan. Mais seis lotes, oriundos de outras tantas necrópsias serviram para comparação e se acham depositados na mesma coleção sob os Nos. 5.530, 5.527, 5.523, 5.533, 5.525 e 2.443. Êste último pertence ao mesmo lote que os cotipos. Todas as medidas se referem a espécimes comprimidos e montados. Esta espécie foi por nós encontrada exclusivamente em *Liophis miliaris*, parece-nos haver neste caso uma estreita especificidade parasitária. O quadro seguinte dá conhecimento da origem das várias serpentes parasitadas e fornece os diferentes pormenores relativos ao material estudado:

Lote No.	*Hospedeiro*	*Localização*	*Procedência*		*Data*
			Cidade	*Estado*	
2.443	*Liophis miliaris* (L.)	Pulmão	?	?	4/4/935
2.444	*Liophis miliaris* (L.)	Pulmão	?	?	4/4/935
5.530	*Liophis miliaris* (L.)	Pulmão	Jacarezinho	Paraná	16/1/942
5.527	*Liophis miliaris* (L.)	Pulmão	Curitiba	Paraná	19/1/942
5.525	*Liophis miliaris* (L.)	Pulmão	Restinga Sêca	Rio G. do Sul	23/1/942
5.523	*Liophis miliaris* (L.)	Pulmão	Restinga Sêca	Rio G. do Sul	23/1/942
5.533	*Liophis miliaris* (L.)	Pulmão	Restinga Sêca	Rio G. do Sul	23/1/942

(1) Pertencem a uma só necrópsia.

Westella, n. g.

Diagnose genérica:

Plagiorchiidae: Corpo espatulado, com maior largura na metade posterior do corpo. Cuticula revestida de espinhos. Ventosas quasi iguais; acetábulo pre-equatorial. Esôfago curto. Cecos atingindo o terço posterior do corpo. Testículos lisos ou sub-lobados, post-equatoriais, com campos afastados e zonas parcialmente coincidentes. Bolsa do cirro muito desenvolvida, recurvada para baixo, com uma parte basal muito dilatada; contem vesícula seminal enovelada, longo *ductus* e um cirro tubular e inerme. Poro genital post-acetabular, pre-equatorial, lateral à linha mediana do corpo. Ovário liso, menor do que os testículos, equatorial e oposto ao poro genital. Vagina tubular, musculosa, recurvada externamente sôbre o ramo descendente da bolsa do cirro. Útero composto por um ramo descendente fino e sinuoso que atinge a extremidade posterior do corpo, e de outro ascendente, muito calibroso, que passa entre os testículos, forma várias curvas e atinge a região acetabular. Vitelinos na maioria intra-cecais e dispostos em dois campos, mais ou menos distintos, que se estendem da zona ovariana à post-testicular; são formados por cachos de ácinos volumosos. Receptáculo seminal e glândula de Mehlis presentes. Parasito do esôfago e cavidade bucal de ofídios.

Espécie tipo: *Westella sulina*, n. sp.

Êste gênero é próximo de *Opisthogonimus* LÜHE, 1900, dele se distinguindo, principalmente, pela forma do corpo e pela posição do poro genital.

Westella sulina, n. sp.

(Figs. 4 e 5)

Diagnose específica:

Westella: Corpo de tamanho médio, espatulado, com o terço anterior mais delgado; comprimento de 6,93 a 7,53mm. Largura ao nivel do acetábulo variando entre 1,33 e 1,91mm. Cutícula revestida de espinhos dispostos em filas transversais, mais ou menos densos no terço anterior do corpo e faltando nas extremidades. Ventosa oral sub-terminal, voltada para a face ventral, circular, medindo 0,424 a 0,692mm de diâmetro. Acetábulo circular, imediatamente superior à linha divisória dos terços médio e superior, medindo 0,537 a 0,636mm de diâmetro. Distância entre as ventosas variando de 1,908 a 2,403mm. Distância da bifurcação cecal ao acetábulo de 1.272 a 1,626mm. Pre-faringe com cêrca de 0,150mm. Faringe musculoso, trapezóide, medindo 0,141 a 0,183mm de comprimento por 0,183 a 0,240mm de largura. Esôfago curto com 0,169 a 0,282mm de comprimento. Cecos sub-iguais, distando de 0,848 a 1,484mm da extremidade posterior do corpo. Testículos sub-iguais, arredondados ou ligeiramente lobados, imediatamente post-equatoriais, intra-cecais e cecais, com campos muito afastados e zonas parcialmente coincidentes, medindo 0,449 a 0,820mm de comprimento por 0,353 a 0,452mm de largura; testículo anterior com campo coincidente com o poro genital; testículo posterior com campo coincidente com o ovário. Vasos eferentes unindo-se na base da bolsa do cirro. Esta é um órgão muito desenvolvido, apresenta uma parte basal dilatada, situando-se do lado ovariano, da qual se origina um ramo mais delgado que se dirige para o lado oposto, traçando em seu percurso uma curva em forma de U voltado para baixo e terminando próximo à linha cecal, onde se situa o poro genital; contem uma vesicula seminal tubular e mais ou menos enovelada, que ocupa cêrca de um quarto do comprimento total da bolsa, segue-lhe um longo *ductus* que se continua por um cirro medianamente calibroso e inerme. Mede a bolsa do cirro 1,696 a 2,191mm de comprimento por uma largura máxima de 0,166 a 0,339mm. Ovário ovalado, liso, post-acetabular, pre-testicular, medindo cêrca de 0,353mm de comprimento por 0,254mm de largura. O útero é extremamente caraterístico: apresenta um ramo fino que, descendo por um dos lados, forma numerosas circunvoluções na parte posterior do corpo, ascendendo pelo lado oposto; a uma certa altura o ramo ascendente avoluma-se bruscamente e, formando três ou quatro curvas, insinua-se entre os testículos, atinge a zona acetabular e dirige-se para o lado terminando ao nivel da vagina. Êste órgão é tubular, muito volumoso e rodeado por células glandulares, recurvado sôbre o ramo descendente da bolsa do cirro; mede cêrca de 0,777mm de comprimento por cêrca de 0,197mm de largura. Receptáculo seminal ovalado, para-ovariano, medindo 0,183 a 0,452mm de comprimento por 0,141 a 0,311mm de largura. Glândula de Mehlis entre o receptáculo

seminal e o ovário. Vitelinos dorsais, intra-cecais e cecais, divididos em dois campos mais ou menos distintos, formados por numerosos cachos de ácinos volumosos que se estendem desde a zona ovariana até a região post-testicular, pouco além da linha que divide os terços médio e posterior. Ovos numerosos, ovais, de casca delgada, operculados, medindo 0,018 a 0,028mm de comprimento por 0,011 a 0,017mm de largura.

Hospedeiro tipo: *Philodryas schottii* (Schlegel). Nome vulgar: "Parelheira".

Localização: Cavidade bucal e esôfago.

Localidade tipo: Tuparaí — Rio Grande do Sul — Brasil.

A descrição e medidas apresentadas para a presente espécie foram baseadas em seis espécimes comprimidos e montados, fichados sob o No. 5.316 e depositados na coleção de Parasitologia do Instituto Butantan.

DISCUSSÃO

a) Posição sistemática do gênero *Westella*:

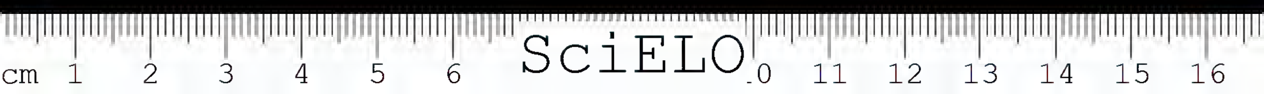
Pelas caraterísticas morfológicas, o novo gênero *Westella* deve ser incorporado à subfamília *Opisthogoniminae* Travassos, 1928, de acôrdo com os têrmos da definição diagnóstica estabelecida por Mehra (1931). Desta forma, a referida subfamília passaria a ficar integrada pelos gêneros *Opisthogonimus* Lühe, 1900, e *Westella*, n. g..

b) Posição sistemática do gênero *Liophistrema*:

Nas diferentes subfamilias dos *Plagiorchiidae* não é possível enquadrar êste novo gênero de trematóides. A carateristica essencial do gênero *Liophistrema* é a localização post-acetabular do poro genital. Esta particularidade é compartilhada pelos gêneros *Opisthogonimus* Lühe, 1900, e *Lissorchis* Magath, 1918.

O gênero *Opisthogonimus*, tipo da subfamília *Opisthogoniminae* tem, todavia, particularidades morfológicas que o afastam de modo decisivo de *Liophistrema*: ao passo que naquele gênero o poro genital é post-ovariano e, em geral, de situação testicular, no gênero *Liophistrema* o poro genital é pre-ovariano e pouco distante do acetábulo. De outro lado, a forma, disposição, situação e tamanho da bolsa do cirro são outros caracteres que devem ser levados em consideração.

O gênero *Lissorchis*, criado por Magath (1918) e que serve de tipo à família *Lissorchiidae* Poche, 1926, embora participe da particularidade de ter o poro genital post-acetabular, apresenta várias carateristicas que o distanciam consideravelmente de *Liophistrema*; são entre outros: a posição nitidamente lateral



do poro genital, a forma fortemente lobada do ovário, a disposição dos vitelinos, a disposição e situação dos testículos no terço posterior do corpo.

Assim sendo, embora sem procurar elementos de ordem evolutiva, como o conhecimento das formas larvárias e a anatomia perfeita do aparelho excretor, parece-nos razoável propor o estabelecimento, dentro da família *Plagiorchiidae*, da subfamília *Liophistreminae*, n. subfam., com os seguintes caracteres:

Liophistreminae, n. subfam.

Plagiorchiidae: Poro genital de situação post-acetabular e pre-ovariana, localizado ligeiramente para fora da linha mediana na espécie tipo do gênero tipo. Bolsa do cirro pequena, pre-ovariana, dirigindo-se do lado do ovário para o do acetábulo. Ovário arredondado, de superfície lisa. Receptáculo seminal presente, testiculos ligeiramente piriformes, de superfície lisa, de situação equatorial. Vitelinos dorsais, intra-cecais, formados de cachos de ácinos volumosos. Vesícula excretora em forma de Y, com o ramo impar muito curto.

Gênero tipo: *Liophistrema*, g. n.

RESUMO

1. Neste trabalho são descritas duas novas espécies de trematóides, para as quais foram propostos novos gêneros: *Liophistrema pulmonalis*, n. g., n. sp., parasita do pulmão de *Liophis miliaris* (L.), e *Westella sulina*, n. g., n. sp., parasita da boca e esôfago de *Philodryas schottii* Schlegel.
2. O gênero *Liophistrema* tem como elemento essencial de diferenciação a situação do poro genital post-acetabular.
3. O gênero *Westella*, próximo de *Opisthogonimus* Lühe, 1900, distingue-se essencialmente pela posição do poro genital e pela conformação da bolsa do cirro.
4. O gênero *Liophistrema* não se enquadra nas várias subfamilias dos *Plagiorchiidae*, sendo então proposta para êste gênero a subfamilia *Liophistreminae*, n. subfam.
5. O gênero *Westella* se enquadra na subfamilia *Opisthogoniminae* Travassos, 1928.

ABSTRACT

1. In this paper two trematode genera and two new species are described: *Liophistrema pulmonalis*, n. g., n. sp., parasite of the lungs of *Liophis*

miliaris (L.), and *Westella sulina*, n. g., n. sp., parasite of the mouth and oesophagus *of Philodryas schottii* (SCHLEGEL).

2. The post-acetabular position of the genital pore is one of the most important characteristics in the differentiation of *Liophistrema*, n. g.

3. *Westella*, n. g., has the position of the genital pore and the morphology of the cirrus pouch as essential characteristics; it is related to *Opisthogonimus* LÜHE, 1900.

4. *Liophistrema*, n. g., has no place in the subfamilies of *Plagiorchiidae* and the new subfamily *Liophistreminae* is proposed for this genus.

5. *Westella* is well located in the subfamily *Opisthogoniminae* TRAVASSOS, 1928.

BIBLIOGRAFIA

Boer, J. G. — Description of a new genus of *Lepodermatidæ (Trematodo)* with a systematic essay of the family — Parasitology 16(1):22.1924.

Bhaleroo, G. D. — *Pneumotremo travassosi*, n. g., n. sp. — Proc. Zool. Soc. London 107: 365.1937.

Bhalerao, G. D. — Two new trematodes from reptiles: *Paryphostomum indicum*, n. sp., and *Stunkardia dilymphosa*, n. gen., n. sp. — Parasitology 23:99.1931.

Byrd, E. E.; Parker, M. V. & Reiber, R. J. — A new genus and two new species of digenetic trematodes, with a discussion on the systematics of these and certain related forms — Jour. of Parasitology 26(2):101.1940.

Faust, E. C. — Human helminthology. Segunda edição. Philadelphia, 1939.

Guberlet, J. E. — Two new genera of trematodes from a red-billied water snake — Jour. of Helminthology 6:205.1928.

Harwood, P. D. — The helminths parasites in the Reptilia and Amphibia of Houston Texas and vicinity — Proc. U. S. Nat. Mus. 81:71.1932.

Lühe, M. — Ueber einige Distomen aus Schlangen und Eidechsen — Centralbl. f. Bakteriologie, Abt. I, 28.1900.

Lurber, E. W. — *Megalogonia ictaluri* a new species of trematode from the channel catfish *Ictalurus punctatus* — Jour. of Parasitology 14:296.1928.

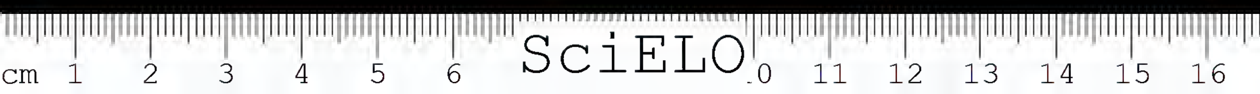
Magath, T. B. — The morphology and life-history of a new trematode parasite *Lissorchis fairporti*, nov. gen. *et* nov. spec., from the buffalo fish, *Ictiobus* — Jour. of Parasitology 4:58.1918.

McMullen, D. B. — A discussion of the taxonomy of the family *Plagiorchidæ* LÜHE, 1901 and related trematodes — Jour. of Parasitology 23:244.1937.

Mehra, H. R. — A new genus (*Spinometra*) of the family *Lepodermotidæ* ODHNER (*Trematoda*) from a tortoise, with a systematic discussion and classification of the family — Parasitology 23:157.1931.

Mehra, H. R. — On a new trematode *Microderma elinguis*, n. g., n. sp. — Parasitology 23:191.1931.

Nicoll, W. — The trematode parasites of North Queensland I. — Parasitology 6:333.1914



Nicoll, W. — The trematode parasites of North Queensland IV. Parasites of Reptiles and frogs — Parasitology **10**: 368.1918.

Nicoll, W. — On three new trematodes from reptiles — Proc. Zool. Soc. London :683.1911.

Nicoll, W. — Trematodes from animals dying in the Zoological Society's Garden during 1911-1912 — Proc. Zool. Soc. London 1: 142.1914.

Pereira, C. — Fauna helminthologica dos ophideos brasileiros (3a. nota) — Boletim Biológico (12): 50.1928.

Pereira, C. — Revisão do genero *Opisthogonimus* — Rev. Museu Paulista **16**: 993.1929.

Poche, F. — Das System der Platodaria — Arch. f. Naturg. Jahrg. **91**: 458.1926.

Talbot, S. Benton — A description of four new trematodes of the subfamily *Reniferinæ* with a discussion of the systematic of the subfamily — Trans. Amer. Micr. Soc. **53**(1): 40.1934.

Travassos, Lauro — Trematodeos novos (V.) — Boletim Biológico (1): 16.1926.

Travassos, Lauro — Trematodeos novos (V.) — Boletim Biológico (7): 95.1927.

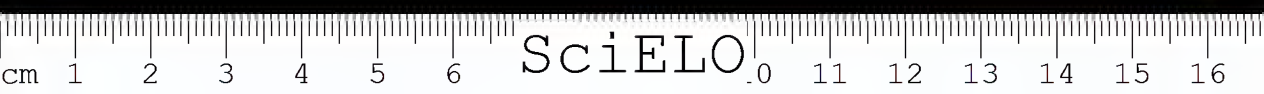
Travassos, Lauro — Fauna helminthologica de Mato Grosso — Mem. Inst. Osw. Cruz **21**(2): 309.1928.

Vianna, L. — Tentativa de catalogação das especies brasileiras de trematoides — Mem. Inst. Osw. Cruz **17**(1): 95.1924.

Ward, H. B. & Whipple, G. C. — Fresh Water Biology. 1111 pp. New York, 1918.

Woodhead, A. E. & Malewitz, H. — *Mediogonimus olivaceus*, n. g., n. sp. — Jour. of Parasitology **22**(3): 273.1936.

(Trabalho de colaboração dos Laboratórios de Parasitologia do Instituto Butantan e da Faculdade de Farmácia e Odontologia da Universidade de São Paulo. Entregue para publicação em 2-9-42 e dado à publicidade em fevereiro de 1943).


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
Vol. XVI — 1942



FIG. 2

Liophistrema pulmonalis, n. g., n. sp. — vista de meio perfil



FIG. 1

...strema pulmonalis, n. g., n. sp. — vista total.



FIG. 3

Liophistrema pulmonalis, n. g., n. sp. — Pormenor da bolsa do cirro. Desenho feito *in vivo*

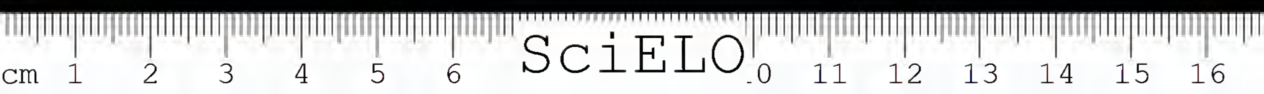
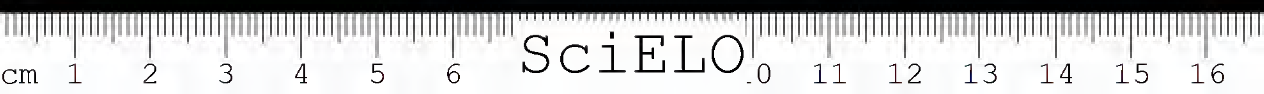

cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
11 12 13 14 15 16



FIG. 4
Westella sulina, n. g., n. sp. — vista total.



FIG. 5
Westella sulina, n. g., n. sp. — Pormenor da bolsa do cirro.


SciELO

595.122

NOTAS HELMINTOLÓGICAS

I. Três novas espécies de *Opisthogonimus* parasitas de ofídios brasileiros (*Trematoda: Plagiorchiidae*)

POR

JOSÉ M. RUIZ & ARISTOTERIS T. LEÃO

Estudando os trematóides encontrados em centenas de serpentes necropsiadas no laboratório da Seção de Parasitologia do Instituto Butantan, provenientes de várias localidades dos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, chamaram-nos a atenção, entre outras, as três espécies de *Opisthogonimus* que passamos a descrever, por nos parecerem novas, sob os nomes de *Opisthogonimus artigasi*, n. sp., *Opisthogonimus fonsecai*, n. sp., e *Opisthogonimus pereirai*, n. sp.. As duas primeiras homenageiam os parasitologistas Profs. Paulo de Toledo Artigas e Flavio da Fonseca, aos quais devemos, em parte, a realização dêste trabalho. A terceira espécie dedicamos ao Prof. Clemente Pereira, a quem muito deve o progresso da helmintologia em nosso País.

Opisthogonimus artigasi, n. sp.

Diagnose específica: *Opisthogonimus*. Corpo de tamanho médio, extremidades arredondadas; extremidade anterior mais larga, atingindo o máximo de largura na zona acetabular, adelgaçando progressivamente para a extremidade posterior, medindo 3,50 a 6,25mm de comprimento por 1,00 a 1,84mm de largura. Cuticula revestida de pequenos espinhos principalmente na região anterior. Ventosa oral subterminal, voltada para a face ventral, medindo de 0,470 a 0,850mm no sentido longitudinal por 0,497 a 0,884mm no sentido transversal. Acetábulo forte, na metade anterior do corpo e próximo da linha divisória desta com a posterior, medindo 0,552 a 0,644mm no sentido longitudinal por 0,515 a

0,644mm no sentido transversal. A distância entre as ventosas varia de 0,828 a 1,085mm.

Pre-faringe nulo ou pequeno, com cêrca de 0,030mm. Faringe musculoso, arredondado, com 0,087 a 0,189mm no sentido do comprimento e 0,167 a 0,228mm no sentido da largura. Esôfago curto ou médio, com 0,330 a 0,912mm de comprimento. Cecos simples, relativamente curtos, terminando a cêrca de 0,460 a 1,096mm da extremidade posterior do corpo. Bifurcação cecal distando de 0,470 a 1,096mm do bordo anterior do acetábulo. Testículos lisos ou ligeiramente irregulares, arredondados ou ovalados, situados na linha divisória do terço médio e posterior do corpo, intra-cecais e cecais, com campos afastados e zonas coincidindo parcial- ou totalmente; medem os testiculos de 0,368 a 0,644mm no sentido do comprimento por 0,184 a 0,497mm no sentido da largura. Bolsa do cirro muito longa e delgada, com exceção do quarto basal que é alargado, pelo menos duas vêzes mais grosso que o ramo descendente, recurvada, com um ramo pequeno, ascendente, um ramo transverso e outro descendente bem longo; inicia-se na zona acetabular e termina próximo da margem posterior da zona testicular, com trajeto intra- ou extra-testicular, contendo vesícula seminal alongada e recurvada sôbre si mesma, longo canal ejaculador e cirro tubular e inerme; mede a bolsa do cirro de 1,637 a 2,300mm de comprimento por cêrca de 0,170mm de maior largura. Poro genital próximo da linha mediana, testicular ou post-testicular. Ovário arredondado, para-mediano ou lateral, equatorial, na zona acetabular ou inferior à mesma, medindo de 0,257 a 0,460mm no sentido longitudinal por 0,184 a 0,368mm no sentido transversal. Receptáculo seminal ovalado, logo abaixo do ovário, com cêrca de 0,190 a 0,368mm de comprimento por 0,083 a 0,147mm de largura. Glândula de Mehlis pouco distinta. Útero se estendendo da zona ovariana à extremidade posterior do corpo; consiste de um volumoso ramo mediano e de várias alças post-testiculares. Vagina longa, paralela e externa ao ramo descendente da bolsa do cirro, de musculatura media, medindo de 0,920 a 1,067mm de comprimento. Ovos numerosos, acastanhados, operculados, medindo cêrca de 0,027mm de comprimento por 0,015 a 0,017mm de largura. Vitelinos dorsais, intra-cecais, cecais e ligeiramente extra-cecais, formados por numerosos ácinos reunidos em cachos mais ou menos irregulares, indo da zona acetabular ao limite posterior da zona testicular. Poro excretor mediano e na extremidade posterior do corpo.

Hospedeiro tipo: *Dryophylax pallidus* (L.) — Nome vulgar: "Corre campo" ou "Corredeira".

Habitat: Esôfago.

Localidade tipo: Restinga Sêca — Rio Grande do Sul — Brasil.

A descrição desta espécie foi baseada em quatro exemplares capturados no esôfago de dois hospedeiros da mesma localidade (Lâminas Nos. 3.708 e 3.709).

os quais foram comparados com 21 exemplares paratipos capturados na cavidade bucal e no esôfago das seguintes espécies de cobras: *Dryophylax pallidus* (L.), proveniente de Marechal Mallet, Paraná (Lâminas Nos. 5.129 e 5.130); *Dryophylax pallidus* (L.), da mesma proveniência (Lâmina No. 5.181); *Tomodon dorsatus* Duméril & Bibron, proveniente de Araucária, Paraná (Lâmina No. 3.695).

As lâminas acima referidas acham-se depositadas na coleção de parasitologia do Instituto Butantan.

As medidas foram tomadas em material comprimido e montado.

A presente espécie se distingue de todas as outras principalmente:

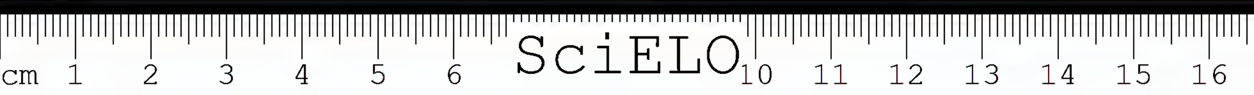
a) Pela morfologia da bolsa do cirro, a qual apresenta a parte basal muito dilatada e com espessura pelo menos duas vêzes maior que a dos ramos transverso e descendente; êste caráter não existe em nenhum outro *Opisthogonimus*.

b) Pela disseminação dos vitelinos que atingem francamente a região acetabular e que não ultrapassam de muito a zona post-testicular.

Opisthogonimus fonsecai, n. sp.

Diagnose específica: *Opisthogonimus*. Trematóide de tamanho médio, de musculatura bem desenvolvida, de forma ovalar, extremidades arredondadas, sendo a posterior ligeiramente mais afilada. Comprimento variando entre 3,312 e 4,140mm. Maior largura na região acetabular, variando de 1,527 a 1,656mm.

Ventosa oral subterminal, voltada para a face ventral, circular, com 0,474 a 0,552mm no sentido longitudinal por 0,460 a 0,552mm no sentido transversal. Pre-faringe quasi nulo. Faringe musculoso, trapezóide, rodeado de células de natureza glandular e medindo de 0,182 a 0,205mm no sentido do comprimento por 0,243 a 0,258mm no sentido da largura. Esôfago rudimentar ou ausente. Cecos simples, muito largos e formando numerosas dobras em todo o seu percurso, terminando muito próximo da extremidade posterior do corpo. Testículos lisos ou ligeiramente lobados, arredondados, situados na metade posterior do corpo, cecais e intra-cecais, com campos bem afastados e zonas parcial- ou totalmente coincidentes; medem de 0,312 a 0,456mm no sentido do comprimento por 0,386 a 0,515mm no sentido da largura. Bolsa do cirro longa, recurvada, indo da zona acetabular até próximo do limite superior da zona testicular, medindo cêrca de 1,380 a 1,748mm de comprimento; contem vesícula seminal tubular e recurvada sôbre si mesma e longo cirro tubular, inerme e protractil. Poro genital ventral, submediano, próximo do limite superior da zona testicular. Ovário arredondado ou ovalar, às vêzes, levemente lobado, com zona coincidente parcial- ou totalmente com o acetábulo, medindo de 0,220 a 0,312mm no sentido do



comprimento por 0,220 a 0,294mm no sentido da largura. Receptáculo seminal alongado, post-ovariano, lateral ou para-mediano medindo 0,152 a 0,228mm de comprimento por 0,091 a 0,167 mm de largura. Glândula de Mehlis para-ovariana pouco distinta. Útero muito desenvolvido, consistindo de um grosso ramo mediano, recurvado à maneira de um ponto de interrogação, indo da zona acetabular até a extremidade posterior do corpo, e de algumas alças post-testiculares. Vagina relativamente curta e grossa, frequentemente ondulada, acompanhando externamente o ramo descendente da bolsa do cirro em sua porção mais distal, mede de 0,452 a 0,760mm de comprimento. Ovos muito numerosos, acastanhados, de membrana fina e com pequeno opérculo, medindo cêrca de 0,030mm de comprimento por 0,015mm de largura. Vitelinos dorsais, principalmente intra-cecais, com campos indistintos, formados por ácinos dispostos mais ou menos irregularmente em pequenos cachos, indo da zona post-ovariana até pouco além da zona post-testicular. Poro excretor mediano e sub-terminal.

Hospedeiro tipo: *Xenodon merremii* (Wagler) — Nome vulgar: Boipéva.

Habitat: Cavidade bucal e esôfago.

Localidade tipo: Suzano — São Paulo — Brasil.

As medidas foram tomadas em material comprimido e montado.

A descrição desta espécie foi baseada em cinco cotipos, provenientes de um único lote, fichado sob o No. 5.325 na coleção de parasitologia do Instituto Butantan.

Esta espécie se distingue das demais existentes no gênero pelos seguintes caracteres principais:

a) Forma e tamanho do corpo.
b) Posição, tamanho e forma dos testículos.
c) Conformação e comprimento dos cecos.
d) Posição do poro genital.

Opisthogonimus pereirai, n. sp.

Diagnose específica: *Opisthogonimus*. Trematóide grande, de forma alongada e de extremidades arredondadas; extremidade posterior mais atenuada. Cutícula densamente revestida de espinhos, com exceção das extremidades. O corpo é guarnecido por uma musculatura bem desenvolvida. Mede de 9,50 a 12,0mm de comprimento por 2,25 a 2,75mm de largura na região acetabular. Ventosas circulares; ventosa oral subterminal, voltada para a face ventral, medindo 1,104mm no sentido longitudinal por 1,104 a 1,196mm no sentido transversal; ventosa ventral situada na metade anterior do corpo, medindo de 0,920 a 1,012mm de diâmetro. A distância entre as ventosas varia de 1,527 a 2,944mm.

Pre-faringe nulo ou rudimentar. Faringe musculoso, trapezóide, medindo de 0,137 a 0,324mm no sentido do comprimento por 0,152 a 0,418mm no sentido da largura. Esôfago pequeno, com cêrca de 0,200mm de comprimento. Cecos simples, terminando a cêrca de 1,258 a 2,484mm da extremidade posterior do corpo. Bifurcação cecal distando mais ou menos 1,049 a 2,024mm do bordo anterior da ventosa ventral. Testiculos lisos, arredondados, sub-iguais, situados no terço médio do corpo, intra-cecais e cecais, com campos pouco afastados e zonas coincidindo parcialmente, medindo de 0,920 a 1,012mm de comprimento por 0,582 a 0,828mm de largura. Canais eferentes calibrosos, com a parte basal formando um pedúnculo avolumado na superficie dos testiculos. Bolsa do cirro tubular, longa e recurvada, com a extremidade basal afilada, medindo de 2,668 a 3,220mm de comprimento por 0,184 a 0,312mm de largura na região da vesicula seminal; contem vesícula seminal longa e tubular, enovelada, longo canal ejaculador e cirro tubular e inerme. Poro genital próximo da linha mediana do corpo, no limite superior da zona do testiculo posterior, distando de 1,288 a 1,656mm do bordo posterior da ventosa ventral. Ovário liso, arredondado, lateral ou submediano, inferior e próximo da ventosa ventral, medindo de 0,460 a 0,88mm no sentido longitudinal por 0,423 a 0,533mm no sentido transversal. Espermateca ovalada, logo abaixo do ovário, medindo de 0,114 a 0,320mm no sentido do comprimento por mais ou menos 0,212mm no sentido da largura. Glândula de Mehlis situada entre o ovário e o receptáculo seminal. Útero formando várias circunvoluções post-testiculares, inclinadas e no sentido longitudinal do corpo, ocupando toda a porção posterior, mascarando, em parte, as terminações cecais e ascendendo, em um ramo volumoso e recurvado, até a vagina. Vagina tubular, muito calibrosa, pouco distinta, recurvada, paralela e externa ao ramo descendente da bolsa do cirro; mede mais ou menos de 0,376 a 1,104mm de comprimento. Ovos numerosos, castanho-claros, de casca delgada, operculados, medindo de 0,026 a 0,034mm de comprimento por 0,015mm de largura. Vitelinos dorsais intra-cecais, formados por ácinos arredondados e volumosos que se agrupam em cachos compactos, à maneira dos cachos de uvas, indo da zona ovariana até pouco além da zona testicular. Poro excretor mediano e terminal.

Hospedeiro tipo: *Chironius carinatus* (L.) — Nome vulgar: Cobra cipó.

Habitat: Esôfago.

Localidade tipo: Suzano — São Paulo — Brasil.

As medidas foram tomadas em material comprimido e montado.

Baseia-se a descrição desta espécie em 4 exemplares depositados na coleção de parasitologia do Instituto Butantan, sob No. 5.151.

Opisthogonimus pereirai, n. sp., se aproxima bastante de *Opisthogonimus philodryadum* (West, 1896), diferindo, no entanto, principalmente pelo tamanho do corpo e pela forma e disposição dos vitelinos; êstes se dispõem em cachos com-

pactos, formados por grande número de ácinos volumosos e arredondados, que se estendem em dois campos geralmente bem distintos.

ABSTRACT

Three new Trematoda species are described, belonging to the genus *Opisthogonimus* and parasiting Brazilian snakes.

1 — *Opisthogonimus artigasi*, n. sp. — The present species is recognized by the following characteristics: the cirrus pouch has the basal portion very widely inflated and twice or more as broad as the transversal and descending branches. This aspect is not seen in any other species of the genus.

The vitellaria acini are seen from the acetabular zone up to the testicular region; they scarcely reach the post-testicular region.

2 — *Opisthogonimus fonsecai*, n. sp. — It is distinguished by:

The shape and size of the body; the situation, size and morphology of the testis; the morphology and length of the ceca, and the situation of the genital porus.

3 — *Opisthogonimus pereirai*, n. sp. — This species and *O. philodryadum* are very alike, however *O. pereirai* can be distinguished by the size of the body and the situation and morphology of the vitellaria which are formed by many compact, large and somewhat spherical acini, disposed in two quite independent fields.

BIBLIOGRAFÍA

1 — *Lühe, M.* — Centr. f. Bakt. Parasit. Infekt. 28:555.1900.
2 — *Nicoll, William* — Proc. Zool. Soc. London 1:142.1914.
3 — *Cordero, H. & Vogelsang, H. G.* — Cuarta Reunion de la Soc. Argentina de Patologia Regional del Norte :636.1928.
4 — *Pereira, Clemente* — Boletim Biológico 12:50.1928.
5 — *Pereira, Clemente* — Revista do Museu Paulista 16.1929.

(Trabalho de elaboração dos Laboratórios de Parasitologia da Faculdade de Farmácia e Odontologia da Universidade de São Paulo e do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 27 de março de 1942 e dado à publicidade em fevereiro de 1943).

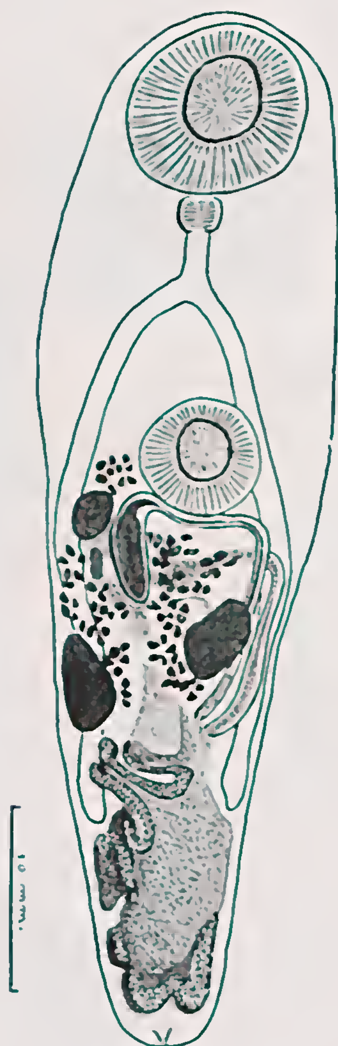


Fig. 1

Opisthogonimus artigasi, n. sp.

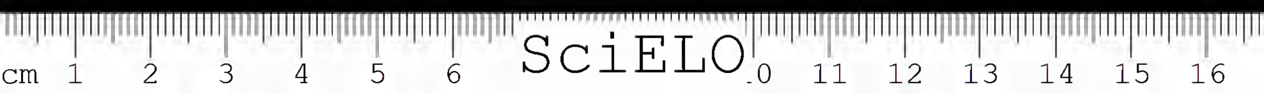

cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
11 12 13 14 15 16



Fig. 2
Opisthogonimus artigasi, n. sp. — Pormenor da bolsa do cirro.

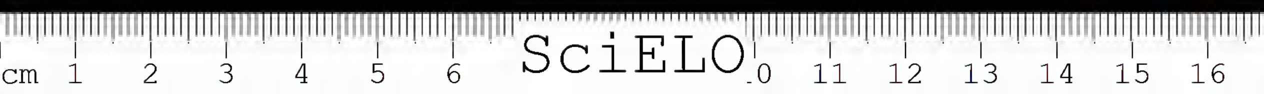

cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
11 12 13 14 15 16



Fig. 3

Opisthogonimus fonsecai, n. sp. — Desenho demonstrando especialmente as alças do ramo descendente do útero.

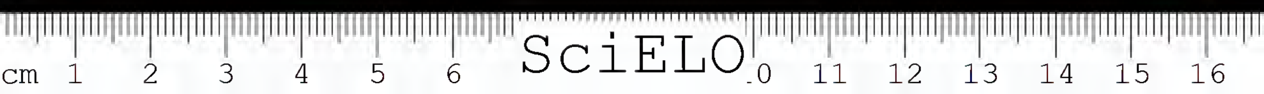
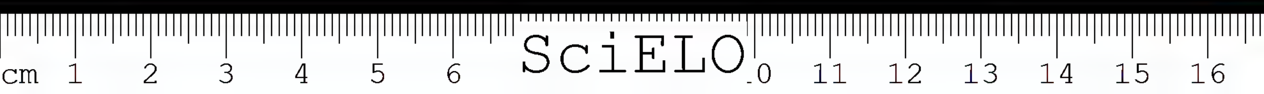

SciELO



Fig. 5

Opisthogonimus pereirai, n. sp.


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16

595.122

NOTAS HELMINTOLÓGICAS

2. Algumas considerações em tôrno do gênero *Leptophyllum* COHN, 1902 *(Trematoda: Plagiorchiidae)*

POR

JOSÉ M. RUIZ & ARISTOTERIS T. LEÃO

Em 1902, Cohn, examinando a porção terminal do intestino de *Chironius fuscus* (L.) (= *Herpetodryas fuscus*), cobra proveniente da América do Sul, encontrou numerosos trematóides que descreveu sob o nome de *Leptophyllum stenocotyle*, estabelecendo assim um novo gênero.

Em 1929, Pereira, estudando os trematóides das serpentes brasileiras, encontrou um exemplar de *Plagiorchiidae* no intestino de *Xenodon merremii* (WAGLER), proveniente do Instituto Butantan, descrevendo-o sob o nome de *Travtrema travtrema*, n. g., n. sp.. Êste mesmo autor considerou o gênero *Travtrema* próximo de *Enodiotrema* Looss, dando a seguinte diagnose genérica:

"*Plagiorchiidae*: Corpo pouco alongado, com maior diâmetro na altura da união dos dois terços anteriores com o terço posterior; acetábulo pre-equatorial; poro genital lateral, pre-acetabular; bolsa do cirro globosa e muito muscular, pre-acetabular, contendo vesícula seminal bem desenvolvida e parte prostática alongada; cirro imperceptível; vagina piriforme e grande, apresentando uma luz notavelmente franjada; útero pouco espêsso, descrevendo numerosas alças no terço posterior do corpo; ovário lateral, atingindo o limite posterior da zona acetabular; vitelinos dispostos em dois grupos laterais, constituidos cada um por cêrca de uma dezena de ácidos volumosos, cecais, intra- e extracecais, pouco excedendo os limites da zona testicular; cecos apenas atingindo o terço posterior do corpo".

O desenho que acompanha a descrição mostra, em seu pormenor da bolsa do cirro, uma vesicula seminal bem desenvolvida, uma parte prostática delgada e um órgão tubular, calibroso, guarnecido de espinhos fortes, que representa a porção terminal da bolsa. Contrariando a afirmação do autor, não vemos neste

órgão mais que um forte e bem desenvolvido cirro guarnecido de evidente armadura espinhosa.

Por outro lado, cremos que Pereira não tivesse tomado conhecimento do trabalho de Cohn que criava o gênero *Leptophyllum*, cuja descrição coincide em grande parte com a do gênero *Travtrema*, que julgamos não deva prevalecer. Para a nova espécie de Pereira, e de acôrdo com as Regras Internacionais de Nomenclatura Zoológica, seria cabivel, uma vez diferenciada especificamente, a denominação *Leptophyllum travtrema* (PEREIRA, 1929).

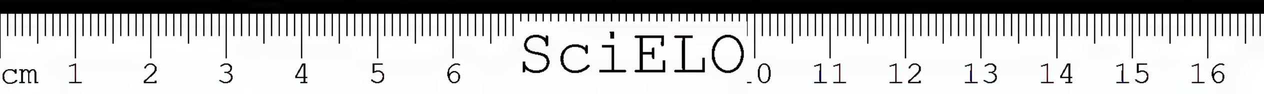
McIntosh, em 1939, encontrou no reto e cloaca da cobra *Agkistrodon piscivorus*, nos Estados Unidos, exemplares de trematóides que descreveu sob o nome de *Leptophyllum tamiamiensis*. Êste autor fazendo considerações em torno do gênero o aproxima também (como já o havia feito Cohn) do gênero *Enodiotrema*: "On account of the heavily armed cirrus (presence of spines not mentioned by Cohn but from his figure they appear to have been present) there appear to be little doubt that the genus should be assigned to the *Enodiotrematinae* BAER, 1924".

No mesmo ano, Byrd e Roudabush descreveram a espécie *Leptophyllum ovalis* do intestino delgado da cobra *Natrix taxispilota* (HOLBROOK), proveniente de Flórida (Est. Unidos), como sendo a terceira espécie de *Leptophyllum* descrita até então.

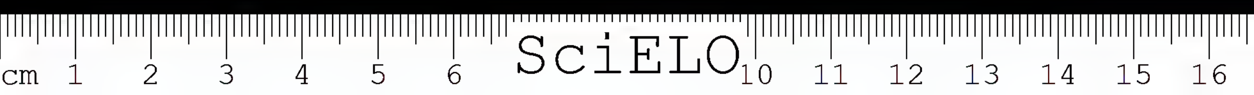
Tanto McIntosh como Byrd e Roudabush desconheciam o trabalho de Pereira, cuja espécie coincide em todos os detalhes com as espécies dos referidos autores.

Mas por outro lado Byrd e Roudabush afirmam: "The present species resembles very closely the two species assigned to the genus in regards to every detail of its anatomy, but differs in regards to both the habitat and host". Considerando o próprio ponto de vista destes autores o gênero *Leptophyllum* estaria integrado pelas espécies: *L. stenocotyle* COHN, 1902, *L. tamiamiensis* MCINTOSH, 1939, *L. ovalis* BYRD e ROUDABUSH, 1939, e *L. travtrema* (PEREIRA, 1929).

Tivemos ocasião de fazer observações pessoais trabalhando com oito lotes de *Leptophyllum* de várias procedências. Dos inúmeros exemplares examinados não nos foi possível diferenciar mais de uma espécie, por não haver um caráter de natureza constante que o permitisse, considerando unicamente os detalhes anatômicos. Esta espécie poderá ser descrita nos seguintes têrmos: Trematóide de pequeno talhe. Corpo de aspecto foliáceo com extremidades arredondadas; extremidade posterior mais larga. Cutícula inerme. Comprimento variando de 0,975 a 3,220mm. Largura máxima ao nivel da zona testicular variando de 0,644 a 1,564mm: medidas tomadas em exemplares comprimidos. Ventosa oral subterminal, voltada para a face ventral, medindo de 0,184 a 0,404mm no sentido longitudinal por 0,102 a 0,423mm no sentido transversal.



Ventosa ventral muito desenvolvida, situada geralmente na metade anterior do corpo, às vêzes atingindo a região equatorial, medindo de 0,202 a 0,478mm no sentido longitudinal por 0,347 a 0,699mm no sentido transversal. A distância entre as ventosas varia de 0,202 a 0,717mm. Pre-faringe nulo. Faringe musculoso, arredondado, medindo 0,060 a 0,083mm no sentido longitudinal por 0,129 a 0,167mm no sentido transversal. Esôfago geralmente pequeno, às vêzes nulo, atingindo o comprimento máximo de 0,076mm. Cecos simples, delgados, estendendo-se até a zona testicular ou ultrapassando-a de leve; a distância da extremidade do corpo aos cecos varia entre 0,129 e 1,288mm. Testículos de forma e tamanho muito variáveis, sempre irregulares no contôrno; situam-se na metade posterior do corpo, intra-cecais, com campos afastados e zonas coincidentes, embora muitas vêzes o sejam em parte. O testículo direito é sempre menor, medindo de 0,184 a 0,553mm no sentido longitudinal por 0,129 a 0,405mm no sentido transversal. O testículo esquerdo tem seu campo em coincidência com o ovário e mede de 0,184 a 0,553mm no sentido longitudinal por 0,184 a 0,407mm no sentido transversal. Bolsa do cirro muito desenvolvida, dilatada e de aspecto ligeiramente fusiforme, situada entre a ventosa ventral e a bifurcação cecal, tem um sentido transverso, sendo ligeiramente recurvada, indo do quadrante súpero-lateral esquerdo da ventosa ventral à abertura genital; mede 0,294 a 0,644mm de comprimento, tendo uma largura compreendida entre 0,092 e 0,220mm (largura máxima). Contem uma vesícula seminal muito desenvolvida, bilobada, o lobo anterior sendo geralmente arredondado e mais volumoso; encerra grande número de espermatozóides que lhe dão um aspecto enovelado, quando examinada com forte aumento; a seguir vamos encontrar uma parte prostática tubular, cujo comprimento é variável; finalmente um cirro muito desenvolvido constitue a parte terminal; êste é guarnecido de forte armadura espinhosa; os espinhos apresentam uma parte basal globosa e se dispõe em fileiras longitudinais, não muito regulares; a porção basal do cirro é mais calibrosa e nessa altura intensificam-se as projeções espinhosas. No interior da bolsa do cirro notamos inúmeras células que envolvem as partes descritas, parecendo de natureza glandular. O poro genital situa-se lateralmente ao nivel da linha cecal e na zona compreendida entre a ventosa ventral e a bifurcação intestinal. Ovário liso, arredondado ou ovalado, com o sentido de maior diâmetro geralmente inclinado; situa-se lateralmente na porção compreendida entre o quadrante inferior da ventosa ventral e o testículo esquerdo: mede de 0,092 a 0,276mm de comprimento por 0,073 a 0,239mm de largura. O receptáculo seminal apresenta-se com uma forma e um tamanho muito variáveis; localiza-se inferior- e lateralmente ao ovário, dirigindo-se para baixo no sentido da linha mediana do corpo; mede 0,110 a 0,294mm de comprimento por 0,055 a 0,257mm de largura. Glândula de Mehlis presente, para-ovariana. Canal de Laurer presente. Útero formado por um ramo descendente entre os testículos que, insinuando-se em circunvolu-



ções irregulares, vae ocupar quasi toda a região posterior do corpo, ascendendo pelo mesmo curso, contornando o acetábulo do lado direito, e terminando na vagina. O limite entre êsses dois órgãos nem sempre é bem nítido. A vagina é um órgão bem desenvolvido e calibroso, de contôrno sinuoso ou irregularmente denteado; com as extremidades relativamente delgadas, alarga-se na parte mediana; é ligeiramente tortuosa, e se estende desde o nivel da ventosa ventral até o poro genital, tendo uma posição lateral e do lado oposto ao da bolsa do cirro; possue uma luz muito franjada e é rodeada por intensa camada de células de natureza glandular; mede 0,257 a 0,552mm de comprimento por 0,073 a 0,184mm de largura máxima. Ovos numerosos, castanho-claros, de casca forte e com visivel opérculo, medindo 0,043 a 0,064mm de comprimento por 0,022 a 0,034mm de largura. Vitelinos constituidos por foliculos volumosos grupados irregularmente, em pequeno número, nas margens laterais do corpo, cecais e extra-cecais, muitas vêzes intra-cecais, estendendo-se desde o nivel inferior da ventosa ventral ao limite inferior da zona testicular, não raro ultrapassando-a um pouco. O lado esquerdo apresenta geralmente menor número de foliculos, quando muito igual, porém nunca maior do que o lado direito; o número de foliculos para o lado esquerdo é de 7 a 12; para o direito 10 a 15. Não foi feito estudo do aparelho excretor do qual só observamos o poro; situa-se posterior- e subterminalmente na linha mediana do corpo.

Ainda atendendo o ponto de vista de Byrd e Roudabush, e como um dos lotes foi encontrado no intestino de *Xenodon merremii*, esta espécie seria *L. travtrema*. Estamos de acôrdo que a descrição desta espécie se ajusta à por nós observada nessa cobra, de um modo geral; porém ajusta-se igualmente às dos demais lotes, que no entanto provêm de quatro outras espécies de cobras, embora a localização seja a mesma (Quadro No. 1). Poderiamos dizer o mesmo com referência às outras espécies descritas, considerando o ponto de vista morfológico, conforme a descrição que acabamos de expor.

As espécies encontradas nos lotes 3.660, 3.661, 5.142, 5.314, 5.395 e 5.493, si considerarmos o fator "hospedeiro", tanto se distanciam de todas as espécies do gênero quanto se distanciam entre si; não é possivel, portanto, criar uma nova espécie para cada hospedeiro.

O fator "especificidade" perde o seu prestígio neste exemplo. Aliás, êsse fato é comum; já o temos observado em outros trematóides parasitas de cobras (gêneros *Opisthogonimus* e *Renifer*, por exemplo). Da descrição dada poder-se-a notar a variação de talhe a que está sujeita a espécie. O comprimento do corpo varia de 0,975 a 3,220mm, e seria difícil, dentro desses limites, estabelecer mais de uma espécie *com a mesma morfologia, a mesma localização*, e apenas com hospedeiro diverso (porém do mesmo grupo).

Em trabalho recente (1940), Byrd, Parker e Reiber, autores americanos, ao criarem um novo gênero: *Paurophyllum*, muito próximo de *Leptophyllum*

(diferencia-se pela ausência de espinhos no cirro) tecem considerações em tôrno dos dois gêneros e com referência às espécies deste último, com que fizeram um exame comparado, assim de expressam: "— The material at our disposal *L. tamiamiensis* McIntosh, 1939, and *L. ovalis* Byrd & Roudabush, 1939, conform remarkably to the description of *L. stenocotyle* Cohn, 1902, and as suggested by McIntosh they may prove to be identical. The variations from Cohn's species noted for the two more recent forms seem, however, to be of

Quadro No. I

No.	Procedência		Hospedeiro	Localização	No. de exemplares
	Cidade	Estado			
[illegible]	São Leopoldo .	R. G. do Sul	*Xenodon merremii* (Wagler) ..	Intest. grosso	5
[illegible]	Araucária	Paraná	*Tomodon dorsatus* (D. & B.) .	Intest. grosso	20
[illegible]	Restinga Seca .	R. G. do Sul	*Dryophylax pallidus* (L.)	Intest. grosso	17
[illegible]	Araçatuba	São Paulo	*Leimadophis poecilogyrus* (W.).	Intest. grosso	10
[illegible]	Tuparaí	R. G. do Sul	*Philodryas schottii* (S.)	Intest. grosso	23
[illegible]	Plinio Prado ..	São Paulo	*Philodryas schottii* (S.)	Intest. grosso	130
[illegible]	Boa Esperança .	São Paulo	*Philodryas schottii* (S.)	Intest. grosso	67
716	Restinga Seca .	R. G. do Sul	*Dryophylax pallidus* (L.)	Intest. grosso	3

sufficient importance to necessitate the establishment of distinct species". — Tais variações, com relação ao comprimento, estão compreendidas entre mais ou menos 1.0 e 1.97mm.

Também é necessário frisar que Cohn trabalhou com material conservado no corpo do hospedeiro, *fixado em alcool*, durante 10 anos. Embora o autor afirme estar o material em boas condições, o que não é de duvidar à vista do desenho que apresenta, devemos ter em mente que as medidas não foram tomadas em exemplares devidamente comprimidos e que os órgãos internos devem ter sofrido variações, graças à retração sempre provocada pelos fixadores em tais condições.

Analisando o desenho dado por Cohn, notamos também tratar-se, possivelmente, de um exemplar não completamente desenvolvido, a julgar pelo número de ovos e o desenvolvimento do útero.

Comparando as figuras dadas por Cohn (Fig. 1), Pereira (Fig. 2 e 3), McIntosh (Fig. 4), Byrd e Roudabush (Fig. 5), nota-se uma semelhança chocante; publicamos tais desenhos para melhor esclarecimento e juntamos dois outros feitos por nós de exemplares pertencentes a dois dos lotes examinados (Nos. 5.314 e 3.660 — Figs. 6 e 7, respectivamente).

A seguir damos relação das medidas tomadas sôbre 20 espécimes escolhidos arbitrariamente dos referidos lotes e que vão representadas no Quadro No. 2.

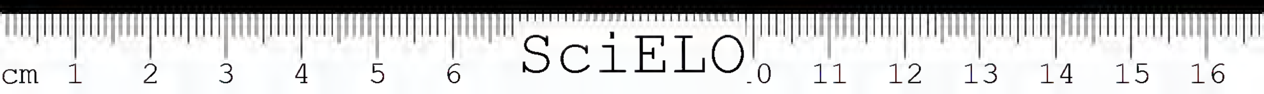
Considerando, pois, a identidade morfológica muito estreita das espécies de Cohn, Pereira, McIntosh e Byrd & Roudabush; considerando o valor relativo da especificidade dos hospedeiros; considerando ainda que a localização das espécies em questão sofre, praticamente, pequena alteração (se não fôr a mesma), e levando-se em conta as variações possíveis de talhe, será muito difícil a separação das três espécies mencionadas da espécie tipo *L. stenocotyle* Cohn, 1902. Talvez só o exame de todas as espécies tipo, mais minucioso e comparado, permita dar uma opinião segura. Entretanto não nos admiraria a confirmação de tratar-se de uma única espécie.

Quanto à validade do gênero *Leptophyllum* houve dúvida da parte de Travassos (1924) que afirma: "No gênero *Leptophyllum* Cohn, 1902, parece ter havido engano quanto à posição do ovário, pois o aspecto do conjunto é de *Dicrocoelidae*, bem como a vesícula excretora, como está representada. Tivemos a impressão que êsse gênero corresponde ao gênero *Infidum*".

Êsse mesmo autor, quatro anos depois (1928), conserva o mesmo ponto de vista e assim se expressa: "Quanto ao gênero *Leptophyllum* Cohn nos parece, como já referimos em trabalho anterior (1924), tratar-se de um engano semelhante ao de Nicoll para o *Xenopharynx*, sendo *Leptophyllum* um *Dicrocoeliidae* e igual a *Infidum* Trav.".

Cremos haver engano da parte de Travassos, pois que as observações de Cohn foram confirmadas posteriormente por Pereira, McIntosh, Byrd & Roudabush, Byrd, Parker & Reiber, bem como por nós mesmos.

Quanto à validade e posição sistemática deste gênero, portanto, parece não haver mais motivo de dúvidas. Byrd, Parker & Reiber fizeram recentemente um acurado estudo sôbre o aparelho excretor de *L. tamiamiensis*, sendo por êles colocado entre os *Plagiorchiidae*, como já o havia feito Baer em 1924. Mas ao passo que Baer, apoiado por McIntosh (1939), o incluia na subfamília *Enodiotrematinae* Baer, 1924, êstes autores o colocam em uma nova subfamília, *Leptophyllinae*, que possue os gêneros *Leptophyllum* e *Paurophyllum*.



Lote No.		3.680	3.680	3.661	3.661	3.716	3.716	3.660	3.660	3.660	3.660	5.142	5.142	5.314	5.314	5.314	5.393	5.393	5.493	5.493	5.493		
Exemplar		A	B	A	D	A	B	A	B	C	D	A	B	A	B	C	A	B	A	B	C	MÍNIMO	MÁXIMO
Comprimento		2,290	2,857	2,300	2,852	2,668	2,815	1,508	2,128	1,336	2,208	0,975	1,472	2,124	2,760	2,668	1,030	1,803	2,392	3,091	3,220	0,975	3,220
Largura máxima		1,172	1,561	1,380	1,288	1,012	1,232	0,846	1,196	0,861	1,269	0,644	0,956	1,251	1,361	1,472	0,791	1,104	1,172	1,324	1,324	0,644	1,564
Ventosa oral	C L	0,276 0,106	0,294 0,349	0,331 0,101	0,349 0,123	0,331 0,331	0,404 0,123	0,262 0,368	0,294 0,312	0,220 0,276	0,312 0,368	0,184 0,102	0,318 0,239	0,276 0,368	0,349 0,349	0,294 0,368	0,184 0,239	0,202 0,331	0,331 0,386	0,349 0,494	0,349 0,404	0,184 0,102	0,404 0,423
Faringe	C L	0,056 0,127	0,106 0,111	0,106 0,167	0,129 0,111	0,098 0,083	0,129 0,152	0,091 0,091	0,111 0,106	0,091 0,091	0,091 0,098	0,060 0,084	0,076 0,099	0,089 —	0,129 0,152	0,099 0,159	0,083 0,098	0,091 0,114	0,099 0,152	0,121 0,159	0,114 0,167	0,060 0,083	0,129 0,167
Esôfago		N.	0,060	0,015	Q. N.	0,030	0,030	0,038	0,076	0,030	0,615	N.	0,023	0,038	Q. N.	Q. N.	Q. N.	Q. N.	0,038	0,053	0,038	N.	0,076
Cecos da extremidade posterior		0,828	1,012	0,644	0,680	0,883	0,883	0,440	0,625	0,312	0,607	0,129	0,276	0,736	0,736	0,809	0,239	0,552	0,828	1,104	1,288	0,129	1,288
Ventosa ventral	C L	0,331 0,552	0,368 0,552	0,460 0,699	0,440 0,736	0,368 0,644	0,469 0,772	0,331 0,478	0,386 0,550	0,312 0,478	0,460 0,644	0,220 0,347	0,294 0,478	0,298 0,625	0,404 0,662	0,404 0,717	1,102 0,349	0,318 0,460	0,405 0,588	0,450 0,662	0,478 0,680	0,202 0,347	0,478 0,699
Dist. entre as ventosas		0,368	0,588	0,460	0,644	0,680	0,680	0,312	0,588	0,312	0,440	0,262	3,319	0,440	0,513	0,486	0,202	0,398	0,450	0,717	0,717	0,202	0,717
Testículo D	C L	0,346 0,276	0,368 0,257	0,368 0,276	0,368 0,220	0,349 0,184	0,312 0,202	0,220 0,128	0,368 0,165	0,202 0,184	0,220 0,257	0,184 0,129	0,165 0,184	0,368 0,368	0,404 0,368	0,404 0,404	0,202 0,202	0,276 0,294	0,423 0,368	0,404 0,331	0,551 0,405	0,184 0,129	0,551 0,405
Testículo E	C L	0,368 0,294	0,478 0,312	0,368 0,312	0,533 0,302	0,349 0,220	0,368 0,239	0,239 0,202	0,365 0,220	0,220 0,184	0,276 0,291	0,184 0,184	0,202 0,202	0,123 0,368	0,440 0,368	0,423 0,494	0,220 0,184	0,312 0,349	0,478 0,349	0,515 0,368	0,533 0,497	0,184 0,184	0,533 0,497
Bolsa do cirro	C L	0,405 0,129	0,405 0,184	0,644 0,165	0,552 0,117	0,178 0,165	0,552 0,184	0,404 0,092	0,368 0,165	0,423 0,092	0,552 0,184	0,294 0,055	0,515 0,062	0,644 0,184	0,552 0,184	0,552 0,220	0,404 0,092	0,478 0,128	0,588 0,184	0,552 0,184	0,588 0,184	0,294 0,092	0,644 0,220
Ovário	C L	0,129 0,220	0,129 0,184	0,165 0,184	0,165 0,165	0,128 0,147	0,128 0,110	0,128 0,092	0,128 0,147	0,110 0,110	0,128 0,184	0,110 0,073	0,331 0,092	0,147 0,147	0,165 0,147	0,202 0,147	0,092 0,092	0,184 0,110	0,147 0,239	0,202 0,202	0,276 0,202	0,092 0,073	0,276 0,239
Vagina	C L	0,368 0,147	0,552 0,129	0,460 0,128	0,460 0,147	0,404 0,184	0,368 0,184	0,312 0,092	0,552 0,128	0,331 0,110	0,331 0,165	0,276 0,073	0,331 0,092	0,440 0,165	0,460 0,202	0,484 0,184	0,257 0,110	0,368 0,092	0,450 0,147	0,450 0,184	0,450 0,184	0,257 0,073	0,552 0,184
Rec. seminal	C L	—	—	0,294 0,117	0,294 0,117	0,276 0,110	0,368 0,184	0,147 0,092	0,165 0,055	0,117 0,073	0,276 0,092	0,110 0,092	0,129 0,073	0,368 0,202	0,496 0,257	0,515 0,110	0,128 0,055	0,184 0,092	0,239 0,129	0,257 0,110	0,294 0,184	0,110 0,055	0,294 0,257
Folículos vitelinos	E D	12 15	7 12	11 11	9 10	10 11	9 10	10 13	9 12	12 12	9 10	10 11	9 12	9 12	12 12	10 10	10 13	9 13	8 11	9 10	9 —	7 10	12 15
Ovos	C L	0,045 0,023	0,045 0,025	0,043 0,022	0,049 0,022	0,043 0,026	0,056 0,026	0,045 0,022	0,049 0,026	0,045 0,026	0,056 0,022	0,057 0,023	0,057 0,030	0,057 0,022	0,043 0,026	0,043 0,022	0,057 0,026	0,060 0,034	0,061 0,030	0,060 0,030	0,064 0,034	0,043 0,022	0,064 0,034

Legenda: C = comprimento; L = largura; D = direito; E = esquerdo; N = nulo; QN = quasi nulo.

RESUMO E CONCLUSÕES

Foram comparados os caracteres que definem os gêneros *Leptophyllum* COHN, 1902, e *Travtrema* PEREIRA, 1929, chegando-se à conclusão de que não é possível admitir a sua separação em dois gêneros distintos, sendo êste último considerado sinônimo do primeiro.

Uma vez provada a validade específica da espécie de Pereira, deveria ser esta denominada *Leptophyllum travtrema*, constituindo a segunda espécie do gênero. As espécies *L. tamiamiensis* MCINTOSH, 1939, e *L. ovalis* BYRD & ROUDABUSH, 1939, seriam respectivamente a terceira e quarta espécies do referido gênero.

Trabalhando com oito lotes de *Leptophyllum*, colecionados no Instituto Butantan e provenientes dos Estados de São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul, localizados no intestino grosso de cinco diferentes espécies de cobras, não foi possível dicernir mais de uma espécie, cujo comprimento oscila de 0,975 a 3,220mm. Foi deste modo posto em evidência o valor muito duvidoso da especificidade de hospedador e a difícil separação de mais de uma espécie dentro de limites mais ou menos amplos.

Comparando os desenhos de Cohn, Pereira, McIntosh, Byrd & Roudabush com os exemplares examinados por nós, verificamos serem morfologicamente idênticos dentro das pequenas variações, sempre possíveis numa mesma espécie observada em condições diversas e por diferentes autores.

Em vista de tais observações será difícil separar as espécies *L. travtrema*, *L. tamiamiensis* e *L. ovalis* da espécie tipo *L. stenocotyle*, avaliando as condições em que trabalhou Cohn.

Com referência à validade do gênero *Leptophyllum* não parece ser possível a existência de dúvidas, estando sua posição sistemática assegurada na família *Plagiorchiidae*.

ABSTRACT AND CONCLUSIONS

The characters presented by the genera *Leptophyllum* COHN, 1902, and *Travtrema* PEREIRA, 1929, have been compared, showing that it is not possible to separate them into two distinct genera, the latter being considered as a synonim of the former.

The specific validity of Pereira's species being proved, it should be called *Leptophyllum travtrema*, constituting the second species of the genus. The species *L. tamiamiensis* MCINTOSH, 1939, and *L. ovalis* BYRD and ROUDABUSH 1939, would be the third and fourth species respectively of the mentioned genus

Working on eight lots of *Leptophyllum* of the collection of the Instituto Butantan, and provenient from the States of São Paulo, Paraná and Rio Grande do Sul, found in the large intestine of 5 different species of snakes, the authors were not able to discover more than one species, the length of which varied from 0,975 to 3,220mm. Thus the very uncertain value of the hosts specificity was evidenciated as well as the difficult separation of more than one species within the somewhat broad limits.

By the comparison of the drawings of Cohn, Pereira, McIntosh, Byrd and Roudabush with the specimens examined, it is stated that they were morphologically identical, with small variations that always occur in the same species observed under different conditions and by different authors.

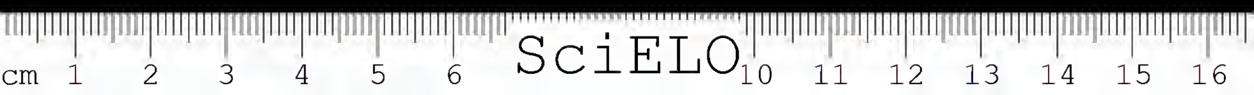
In view of these observations it will be difficult to distinguish the species *L. travtrema*, *L. tamiamiensis* and *L. ovalis* from the type species *L. stenocotyle*, realizing the conditions under which Cohn worked.

As to the validity of the genus *Leptophyllum*, it seems that no doubts are left, its systematic position being in the family *Plagiochiidae*.

BIBLIOGRAFIA

1 — *Cohn, Ludwig* — Centr. Bakt. I. Abt. Orig. 32:877.1902.
2 — *Baer, J. G.* — Parasitology 16.1924.
3 — *Travassos, L.* — Sciencia Medica 2(11):618.1924.
4 — *Travassos, L.* — Mem. Inst. Osw. Cruz 21(2):309.1928.
5 — *Pereira, C.* — Boletim Biológico 16:92.1929.
6 — *McIntosh, Allen* — Proc. Helminth. Soc. Wash. 6:92.1939.
7 — *Byrd, E. E. & Roudabush, R. L.* — Jour. Parasitology 25(6):471.1939.
8 — *Byrd, E. E.; Parker, M. V. & Reiber, R. J.* — Jour. Parasitology 26(2):111.1940.

(Trabalho de colaboração dos Laboratórios de Parasitologia da Faculdade de Farmácia e Odontologia da Universidade de São Paulo e do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 27 de março de 1942 e dado à publicidade em fevereiro de 1943).




cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16



Fig. 1
Leptophyllum stenocotyle, vista total, segundo Cohn.



Fig. 2
Travtrema travtrema (= *L. travtrema*); Segundo Pereira, vista total

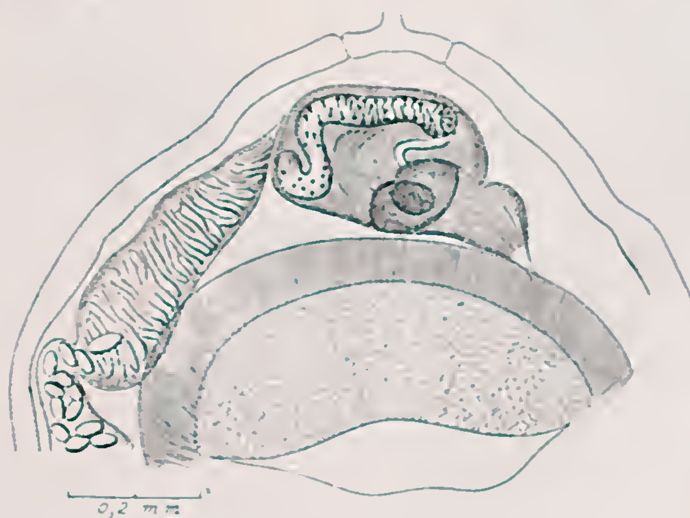


Fig. 3
Travtrema travtrema (= *L. travtrema*); Segundo Pereira, pormenor da bolsa do cirro.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

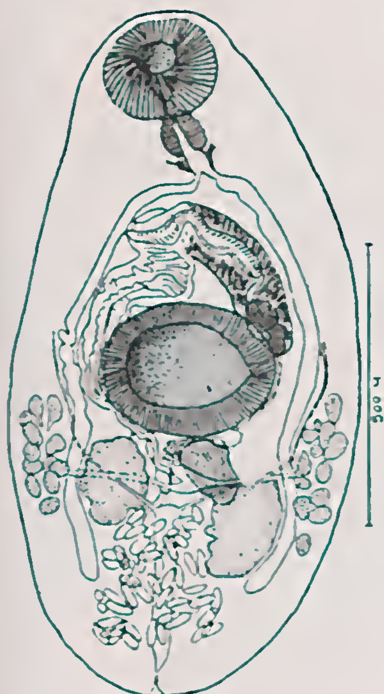


Fig. 4

Leptophyllum tamiamiensis, vista total, segundo McIntosh.



Fig. 5

Leptophyllum ovalis, vista total, segundo Byrd & Roudabush.

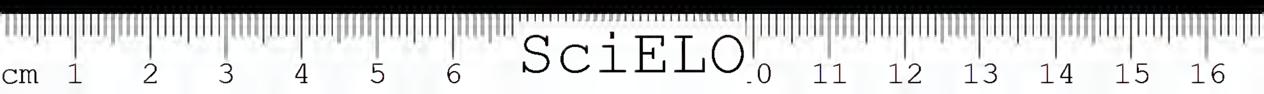

cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 11 12 13 14 15 16



FIG. 6

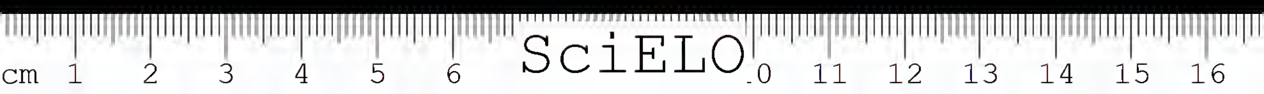
Material do intestino grosso de *Philodryas schottii* (SCHLEGEL) (Lâmina No. 5.314). Original.

0,5 mm



FIG. 7

Material do intestino grosso de *Tomodon dorsatus* D. *et* B. (Lâmina No. 3.660). Original.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 11 12 13 14 15 16

595.122

NOTAS HELMINTOLÓGICAS

3. Nova espécie de trematóide do gênero *Infindum* TRAVASSOS, 1916 (*Dicrocoeliidae*), parasita de ofídio brasileiro.

POR

JOSÉ M. RUIZ & ARISTOTERIS T. LEÃO

O gênero *Infidum* foi criado por Travassos em 1916 que nele incluiu as espécies *I. infidum* (FARIA, 1910) (= *Dicrocoelium infidum*) e *I. similis* TRAVASSOS, 1916, ambas parasitas das vias biliares de cobras brasileiras.

Em 1939, McIntosh descreve uma terceira espécie da vesícula biliar de *Orophis* (*Dromicus*) *hoodensis*, cobra capturada no ano anterior nas Ilhas Galápagos, sob o nome *I. luckeri* MCINTOSH, 1939. Desse modo ficou o referido gênero integrado por três espécies.

Ao examinar os trematóides por nós coletados em 4/12/42 (necrópsia No. 3052 da Seção de Parasitologia do Instituto Butantan), tivemos ocasião de encontrar alguns exemplares que após exame foram colocados no gênero *Infidum*, diferindo, no entanto, das espécies já descritas por alguns detalhes morfológicos que julgamos de suficiente importância para justificar a ereção de uma nova espécie. Passamos a descrevê-la sob o nome de

Infidum intermedium, n. sp.

Diagnose específica.

Infidum: Trematóide de corpo tipicamente piriforme, com a extremidade anterior afilada e posterior arredondada, medindo 2,87 a 3,99mm de comprimento por uma largura variando entre 1,19 e 1,86mm. Medidas tomadas em exemplares comprimidos. Cutícula inerme. Ventosa oral sub-terminal, voltada para a face ventral, medindo 0,282 a 0,424mm no sentido do comprimento por 0,367 a 0,480mm no sentido da largura. Ventosa ventral logo acima da linha equatorial, mediana, circular, com um diâmetro compreendido entre 0,424 a 0,494mm. Distância entre as ventosas de 0,707 a 0,989mm. Faringe pequeno,

medindo 0,084 a 0,113mm no sentido do comprimento por 0,098 a 0,155mm de largura. Em continuação existe um esôfago bem desenvolvido, cuja porção basal é mais dilatada; mede 0,311 a 0,480mm de comprimento e sua largura é próxima da do faringe. Cecos simples, praticamente iguais, estendendo-se até bem próximo da extremidade posterior do corpo, como em *I. infidum*, distando desta 0,565mm em média. A porção terminal é bem mais dilatada. Testículos lobados mais ou menos intensamente, de situação imediatamente superior à linha equatorial, bordos parcialmente coincidentes com a margem do acetábulo, intra-cecais, com campos afastados e zonas coincidentes; o testículo do lado ovariano tende a ser mais volumoso; medem 0,226 a 0,296mm no sentido do comprimento por 0,123 a 0,264mm de largura. Vasos eferentes unindo-se ao nivel da base da bolsa do cirro. Esta é um órgão tubular com a base mais dilatada; inicia-se próximo do bordo superior do acetábulo, na linha mediana do corpo e dirige-se no sentido súpero-lateral; mede 0,367 a 0,494mm de comprimento e cêrca de 0,115mm de largura máxima; contem uma vesícula seminal ovalada com cêrca de 0,185mm de comprimento e 0,098mm de largura; seguem-lhe uma curta parte prostática e um cirro tubulares. Poro genital ligeiramente lateral, ao nivel da bifurcação e imediatamente para fóra do ramo cecal. Ovário arredondado ou alongado, inclina-lo post-acetabular, sub-mediano, com zona parcialmente coincidente com os testículos e não raro com o acetábulo; mede 0,240 a 0,296mm no sentido do comprimento por 0,183 a 0,240mm no sentido da largura. Glândula de Mehlis para-ovariana. Receptáculo seminal e canal de Laurer não foram observados. Útero constituido por numerosas dobras irregulares que se estendem desde o nivel da linha equatorial até muito próximo da extremidade posterior do corpo, ocupando toda a área intra-cecal e cobrindo grande parte dos cecos, os quais ultrapassa lateral- e posteriormente. O ramo ascendente margeia a linha mediana do corpo, afila-se e termina numa vagina delgada e longa paralela e externa à bolsa do cirro. As aberturas masculina e feminina são contíguas. Ovos muito numerosos, medindo 0,022 a 0,025mm de comprimento por 0,011 a 0,014mm de largura. Vitelinos de forma dendritica, laterais, no terço médio do corpo, estendendo-se desde o nivel superior do acetábulo até o nivel superior do terço inferior do corpo. Viteloductos volumosos. Poro excretor mediano e sub-terminal.

A descrição e medidas foram baseadas em cinco exemplares cotipos (Lâmina No. 5.540) tomados entre quinze exemplares paratipos montados sob os Nos. 5.123, 5.125 e 5.126 (Necrópsia No. 3.052), pertencentes à coleção da Seção de Parasitologia do Instituto Butantan.

Hospedeiro tipo: *Leimadophis poecilogyrus* (Wied)
Habitat: Pâncreas, fígado e canal coledoco
Localidade tipo: Guararapes — São Paulo — Brasil.

RESUMO

No presente trabalho é descrita uma nova espécie de trematóide do gênero *Infidum* (*Dicrocoeliidae*), parasita das vias biliares da serpente *Leimadophis poecilogyrus* (Wied). de São Paulo. Brasil. O material tipo se acha depositado na coleção da Seção de Parasitologia do Instituto Butantan (Lâmina No. 5.540).

As quatro espécies podem ser separadas pela seguinte chave dada por McIntosh e ampliada por nós:

1 — Vitelinos estendendo-se anteriormente até o nivel do poro genital ou ultrapassando-o .... *Infidum infidum* (Faria, 1910)
Vitelinos estendendo-se anteriormente até a margem superior do acetábulo 2

2 — Distância da extremidade do intestino ao nivel da zona dos vitelinos quasi igual ao comprimento dos vitelinos 3
Distância da extremidade do intestino ao nivel da zona dos vitelinos muito menor que o comprimento dos vitelinos .... *Infidum luckeri* McIntosh

3 — Vitelinos estendendo-se acima da linha equatorial *Infidum similis* Trav.
Vitelinos estendendo-se, igualmente, para cima e para baixo da linha equatorial .... *Infidum intermedium*, *sp.* n.

ABSTRACT

In the present paper a new trematode species of the genus *Infidum* (*Dicrocoeliidae*), parasite of the biliar tracts of the snake, *Leimadophis poecilogyrus* from São Paulo, Brazil, is described. The type material is kept in the collection of the Department of Parasitology of the Instituto Butantan (slide No. 5.540).

The four species may be distinguished by the following key presented by McIntosh and enlarged by us:

1 — Vitellaria extending anteriorly to level of genital pore or beyond *Infidum infidum* (Faria, 1910)
Vitellaria extending anteriorly only as far as level of anterior margin of acetabulum 2

2 — Distance from tip of intestine to level of vitelline zone about equal to length of vitellaria 3
Distance from tip of intestine to level of vitelline zone much shorter than length of vitellaria .... *Infidum luckeri* McIntosh

3 — Vitellaria extending up to the equatorial line .. *Infidum similis* TRAV.
Vitellaria extending also up and downwards of the equatorial line .... *Infidum intermedium*, n. sp.

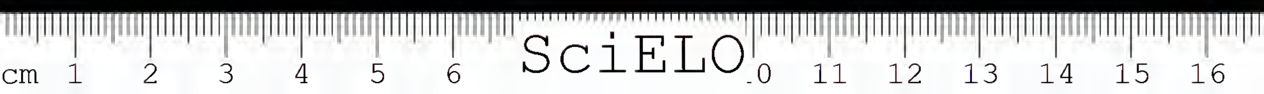
BIBLIOGRAFIA

Faria, Gomes de — Mem. Inst. Osw. Cruz 2(1):22.1910.
Travassos, Lauro — Brasil-Médico (30).1916.
McIntosh, Allen — Smithsonian Miscellaneous Collections 98(16).1939.

(Trabalho de colaboração dos Laboratórios de Parasitologia da Faculdade de Farmácia e Odontologia da Universidade de São Paulo e da Seção de Parasitologia do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 20 de maio de 1942 e dado à publicidade em fevereiro de 1943).



Infidum intermedium, n. sp.



595.122

NOTAS HELMINTOLÓGICAS

4. *Choledocystus vesicalis*, n. sp., parasita da vesícula biliar de *Bufo marinus* (L.). (*Trematoda*: *Plagiorchiidae*)

POR

JOSÉ M. RUIZ & ARISTOTERIS T. LEÃO

O material que ora nos propomos descrever, proveniente de uma necrópsia efetuada em 2 de outubro de 1940, por algum tempo deixou-nos indecisos quanto à sua posição sistemática num dos gêneros dos *Plagiorchiidae* conhecidos até então.

A sua inclusão no gênero *Glypthelmins* STAFFORD, 1905, parecia-nos, a princípio, provável. Ao tomarmos conhecimento do trabalho de Pereira & Cuocolo (Processo papilomatoso das vias biliares de *Leptodactylus ocellatus* (L.), determinado por *Choledocystus eucharis*, n. g., n. sp., (*Trematoda*: *Plagiorchiidae*) Arch. Inst. Biol. S. Paulo 12:311.1941), criando o gênero *Choledocystus*, muito próximo de *Glypthelmins* STAFFORD, 1905, diferenciando-se deste principalmente pela ausência de receptáculo seminal, julgamos acertado colocar no referido gênero a espécie que, por nos parecer nova, passamos a descrever sob o nome de:

Choledocystus vesicalis, n. sp.

Diagnose específica:

Plagiorchiidae de pequenas dimensões, ovalado ou ligeiramente piriforme, medindo 1,597 a 1,711mm de comprimento por 0,881 a 1,067mm de largura máxima, ao nivel equatorial. Cutícula revestida de pequenos espinhos delgados, dirigidos no sentido ântero-posterior do corpo e estendendo-se por toda a superfície do mesmo, sendo menos numerosos na extremidade posterior. Apresentam a mesma dimensão em todo o comprimento do corpo. Ventosa oral

circular, sub-terminal, voltada para a face ventral, com um diâmetro variando entre 0,205 e 0,213mm. Pre-faringe praticamente nulo, seguido de um faringe musculoso que mede 0,106 a 0,114mm de comprimento por 0,137 a 0,177mm de largura. Esôfago curto, com cêrca de 0,038 a 0,053 de comprimento. Numerosas células de natureza glandular envolvem a região esofagiana. Cecos longos, sub-iguais, atingindo a distância de 0,092 a 0,221mm da extremidade posterior do corpo. Ventosa ventral mediana, situada imediatamente acima da linha equatorial, circular, com um diâmetro de 0,198 a 0,281mm. Testiculos ovalados, situados imediatamente abaixo da linha equatorial, intra-cecais e cecais, com campos afastados e zonas quasi coincidentes. Testiculo direito com campo em coincidência com o ovário, medindo 0,198 a 0,266mm de comprimento por 0,152 a 0,228mm de largura. Testiculo esquerdo geralmente num nivel mais superior, medindo 0,228 a 0,266mm de comprimento por 0,186 a 0,228mm de largura. Bolsa do cirro muito desenvolvida, arqueada em C, com a concavidade voltada para a esquerda; inicia-se em altura variável à direita da ventosa ventral e dirige-se para a região súpero-lateral esquerda do mesmo órgão, ao nivel do ceco, onde se situa o átrio genital. Mede a bolsa do cirro 0,380 a 0,456mm de comprimento por 0,099 a 0,129 de largura máxima na porção basal. O seu conteúdo não foi bem observado; impediu-o o grande número de glândulas prostáticas ai existentes, entretanto, é evidente uma vesicula seminal globosa, na parte basal, seguida por uma dilatação menor da qual se origina o duto ejaculador, cuja trajetória não nos foi dado observar. Ovário sub-esférico ou ligeiramente piriforme, ao lado direito da ventosa ventral, com zona coincidindo ou não com êste órgão; menor que os testiculos, mede 0,175 a 0,190mm de comprimento por 0,114 a 0,142mm de largura. Glândula de Mehlis para-ovariana. Receptáculo seminal ausente. Útero extrema- e irregularmente contorcido, intra- e extra-cecal, na porção post-equatorial. O ramo ascendente ultrapassa esta região e termina numa vagina musculosa, recurvada e contornada por numerosas células glandulares em toda sua extensão, medindo 0,190 a 0,243mm de comprimento. Ovos de côr acastanhada, operculados, de casca delgada, medindo 0,026 a 0,030mm de comprimento por 0,015 de largura. Vitelinos formados por numerosos foliculos de tamanho médio, dispondo-se de ambos os lados das áreas extra-cecais e disseminados numa extensão igual ao comprimento dos cecos, cujo limite posterior é atingido de leve. Os dutos vitelinicos centrais que se unem na linha mediana, são formados pela confluência de dois ou três dutos secundários que se ligam na altura da região equatorial.

O aparelho excretor foi observado apenas em parte, pois o material, já montado e em pequeno número, de que dispunhamos não permitiu a observação acurada dos menores detalhes. O poro excretor é mediano, situado na região sub-ventral da extremidade posterior. Vesícula excretora em forma de Y, com os ramos par muito curto e impar longo; a bifurcação tem lugar no nivel supe-

rior da zona testicular, isto é, na linha equatorial; tem um comprimento que varia entre 0,644 a 0,828mm. De cada lado da bifurcação parte um ramo coletor primário, delgado, que se dirige no sentido do prolongamento do Y; ao atingir uma situação entre os vitelinos e os cecos, já ao nivel da ventosa ventral, bifurca-se em dois ramos coletores secundários quasi do mesmo calibre, que se dirigem em sentidos opostos, um para a parte superior e o outro para a inferior. Seguindo o percurso do ramo secundário superior nota-se, ao nivel do limite da zona acetabular, a primeira bifurcação e consequente formação de um ramo terciário que se dirige para baixo e se bifurca depois; logo acima, já ao nivel da vagina, percebe-se a segunda bifurcação do ramo secundário; finalmente ao nivel do esôfago dá-se a terceira bifurcação em finos canais de terceira ordem que se dirigem para cima. O percurso do ramo secundário inferior é mais dificil de ser acompanhado; percebe-se a primeira ramificação logo abaixo, e a segunda ao nivel da zona testicular; provavelmente existe uma terceira ramificação na zona post-testicular, que não foi observada, como não o foram em todo o trajeto as ramificações de terceira ordem, com exceção da primeira do ramo secundário superior e a segunda do ramo inferior; estas se dividem em dois ramos, mas é possivel que a divisão seja em três ramos, um dos quais não foi observado. E assim seria 2 [(3 + 3 + 3) + (3 + 3 + 3)] a fórmula do sistema excretor. Mas pelo que nos foi dado verificar, repetimos, a terceira ramificação não existe. Desse modo o aparelho excretor seria idêntico ao dos Dicrocoelídeos, ou seja subordinado à fórmula 2 [2 + 2 + 2) + (2 + 2 + 2)]. O aspecto do conjunto é, aliás, idêntico ao por nós observado em *Mesocoelium* (*Dicrocoeliidae*). Como não tivemos, entretanto, oportunidade de observar todos os detalhes até as células vibráteis, não nos é autorizado afirmar da verdadeira fórmula que deva corresponder à presente espécie. Aguardamos estudos posteriores que venham dar mais esclarecimentos a esta contribuição. Entretanto, desde já podemos afirmar que a mesma é sem dúvida do tipo 2 [(x + x + x) + (x + x + x)].

Hospedeiro: *Bufo marinus* (L.).

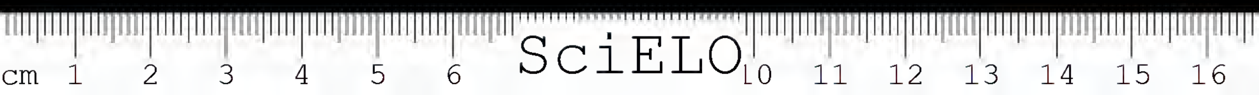
Localidade tipo: Butantan — Capital — São Paulo.

Localização: Vesicula biliar.

Diagnose diferencial:

Choledocystus vesicalis, n. sp., se diferencia de *C. eucharis*, espécie tipo do género, pelos caracteres seguintes próprios à nova espécie:

1) Menor tamanho do corpo.
2) Situação da ventosa ventral.
3) Situação post-equatorial dos testiculos.
4) Extensão dos vitelinos.
5) Hospedeiro.



A descrição de *Choledocystus vesicalis*, n. sp., foi baseada em quatro exemplares cotipos, comprimidos e montados, um dos quais fragmentado, fichados sob o No. 3.684 na coleção da Seção de Parasitologia do Instituto Butantan.

RESUMO

1. No presente trabalho é descrita uma nova espécie de trematóide, *Choledocystus vesicalis*, n. sp., parasita das vias biliares do sapo, *Bufo marinus* (L.) e que constitue a segunda espécie do gênero *Choledocystus* PEREIRA & CUOCOLO, 1941, gênero êste muito próximo de *Glypthelmins* STAFFORD, 1905.
2. A presente espécie se diferencia de *C. eucharis* PEREIRA & CUOCOLO, 1941, pelos seguintes caracteres: situação da ventosa ventral; situação post-equatorial dos testículos; extensão dos vitelinos e hospedeiro.
3. É feita uma descrição parcial do aparelho excretor, cujos detalhes não foram observados, mas chega-se à conclusão que a fórmula representativa é do tipo $2[(x + x + x) + (x + x + x)]$.

ABSTRACT

1. In the present paper a new trematode species, *Choledocystus vesicalis*, n. sp., parasite of the biliary ducts of the toad, *Bufo marinus* (L.), is described, being the second species of the genus *Choledocystus* PEREIRA & CUOCOLO, 1941, this one very similar to *Glypthelmins* STAFFORD, 1905.
2. The present species is distinguished from *C. eucharis* PEREIRA & CUOCOLO, 1941, by the following characteristics: position of the ventral sucker; post-equatorial position of the testis; extension of the vitellaria and host.
3. A partial description is made of the excretory system, the details of which could not be examined thoroughly, reaching, however, the conclusion that the representative formula is of type $2[(x + x + x) + (x + x + x)]$.

(Trabalho de colaboração dos Laboratórios de Parasitologia do Instituto Butantan e da Faculdade de Farmácia e Odontologia da Universidade de São Paulo. Entregue para publicação em 2-9-42 e dado à publicidade em fevereiro de 1943).

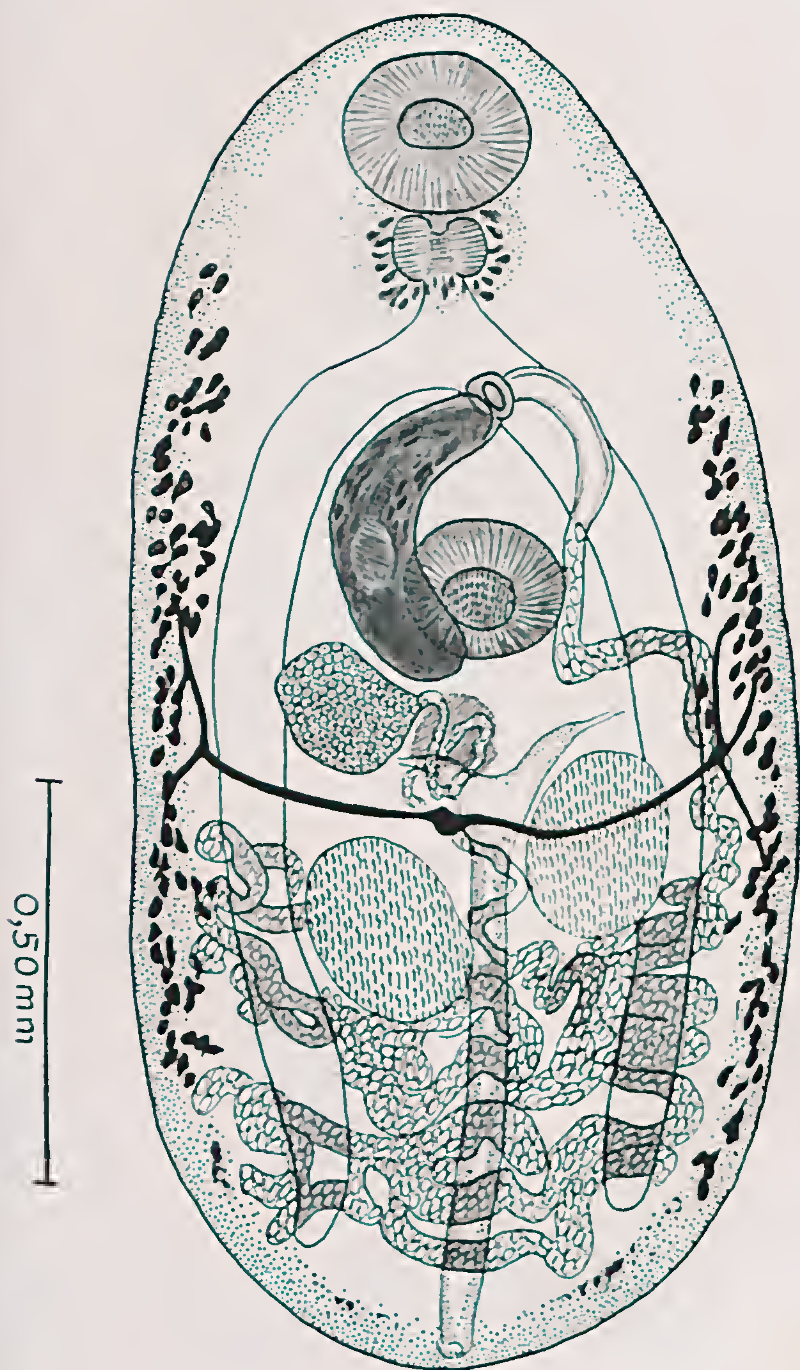
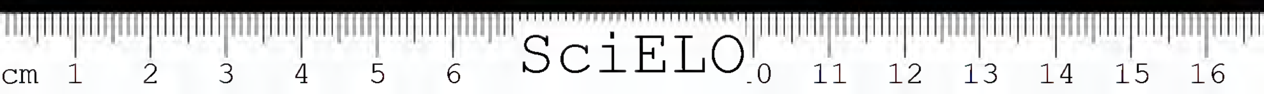


Fig. 1

C. vesicalis, n. sp.. — vista total


SciELO

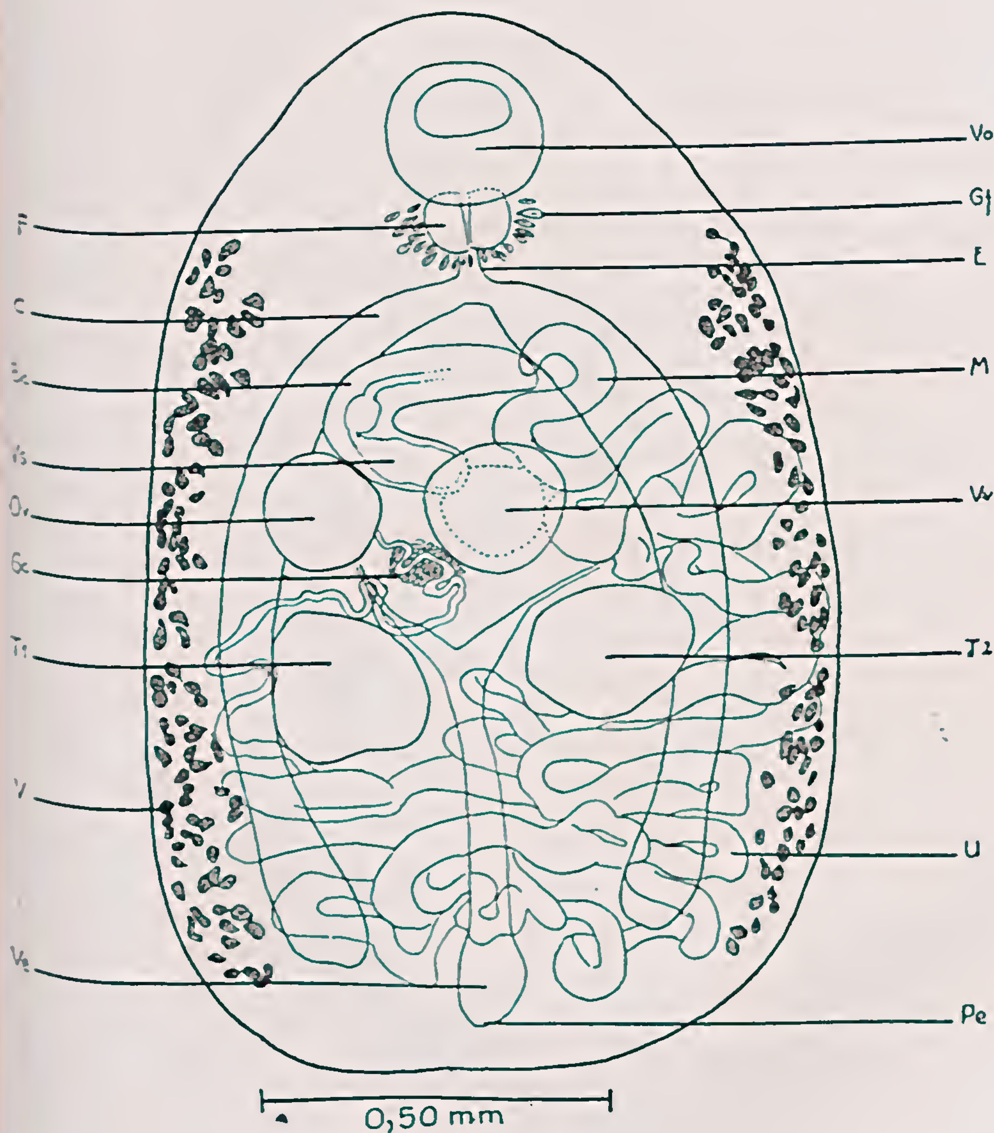
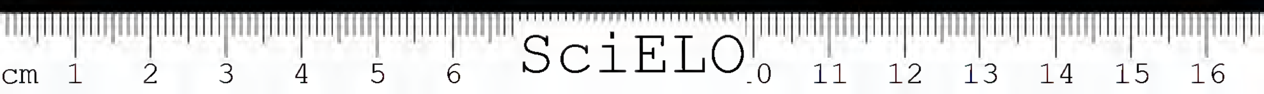


Fig. 2

C. vesicalis, n. sp., — Desenho esquemático

Legenda: Bc = Bolsa do cirro; C = Cecos; E = Esôfago; F = Faringe; Gc = Glândula da casca; Gf = Glândulas peri-faringeanas; M = metratermo; Ov = Ovário; Pe = Poro excretor; T1 = Testiculo direito; T2 = Testiculo esquerdo; U = Útero; V = Vitelinos; Ve = Vesicula excretora; Vo = Ventosa oral; Vs = Vesicula seminal; Vv = Ventosa ventral.


SciELO

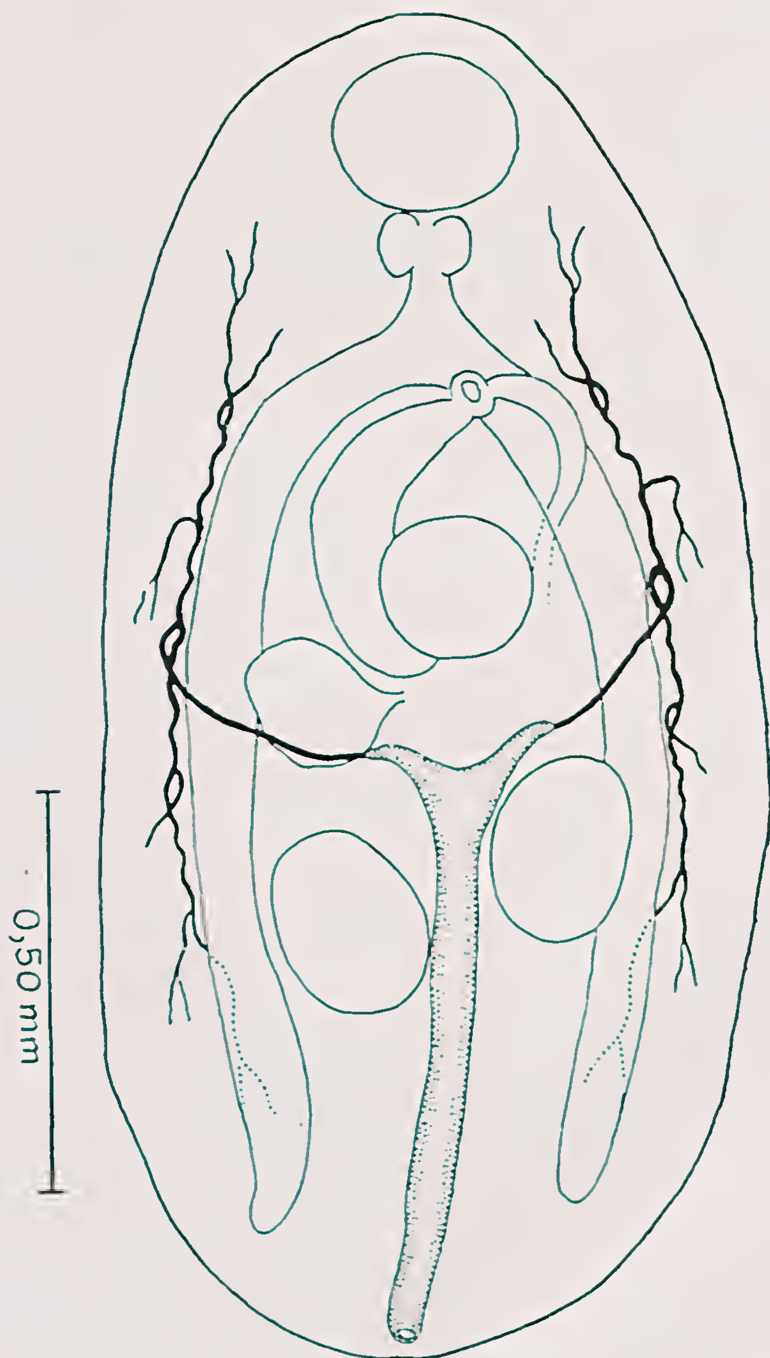
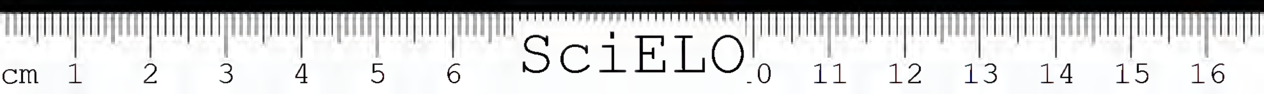


Fig. 3

C. vesicalis, n. sp., — Desenho esquemático. Pormenor do aparelho excretor.


SciELO

591.19:612 492

PRESENÇA DE HORMÔNIO ANTIDIURÉTICO NA HIPÓFISE DE SERPENTES DO GÊNERO *PHILODRYAS*

POR

ANANIAS PORTO & MANOEL FERRAZ

INTRODUÇÃO

A presença de hormônio antidiurético no lobo posterior da hipófise tem sido já assinalada, além dos mamíferos, inclusive o homem, nas aves por De Lawder, Tarr e Geilling (1) e Heller (2); nos peixes por Heller (2), Boyd e Dingwall (3), e nos anfíbios por Heller (2). Segundo êste último a hipófise dos mamíferos teria poder antidiurético oito vêzes maior do que a dos outros vertebrados. Em diferentes espécies, na urina também tem sido revelada a presença deste fator post-hipofisário, entre outros por Gilman e Goodman (4); Hare, Hickey e Hare (5), etc. Por outro lado uma substância antidiurética existiria no fígado bovino, como o demonstraram Theobald e White (6); Schaffer, Cadden e Stander (7).

No presente trabalho demonstramos a presença desse hormônio na hipófise de ofídios, grupo zoológico, ao que nos parece, ainda não estudado neste particular.

MATERIAL E MÉTODO

Escolhemos para êste estudo a hipófise de serpente ovípara, não venenosa, pertencente ao gênero *Philodryas*. Após decapitação, no momento da experiência, de exemplares adultos, de ambos os sexos, a hipófise era retirada e, após trituração, suspensa em sôro fisiológico.

Usamos o test preconizado por Burn (8). A prova se baseia no emprêgo de ratos machos de 150-200 gramas, colocados numa gaiola com dispositivo para coleta de urina, medida de 15 em 15 minutos, durante um tempo determinado. Limitamos nossa observação a 3 horas, por se tratar de uma prova qualitativa (Fig 1).

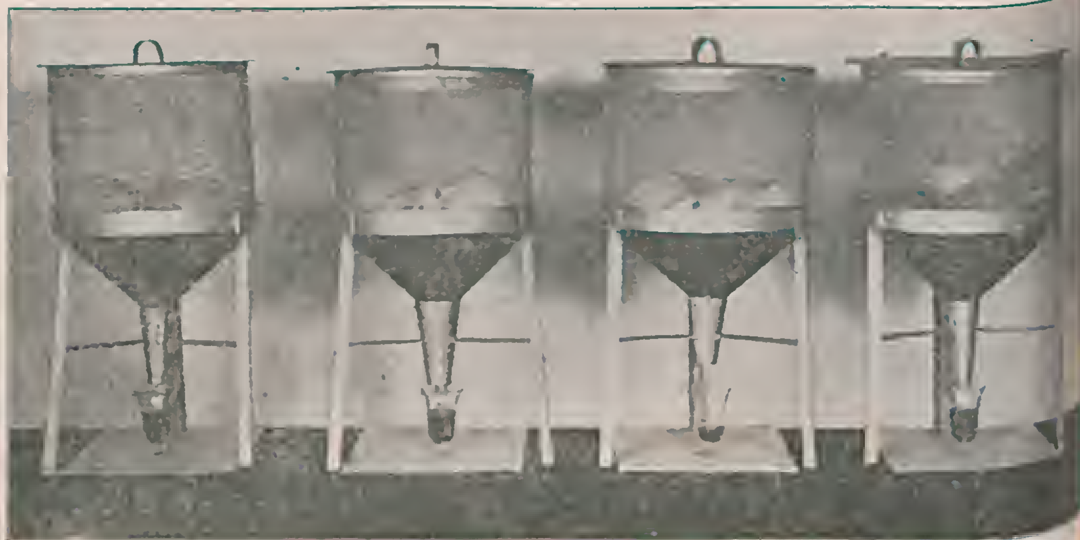


FIG. 1
Gaiolas para col ta e medida de urina

Faziamos ao mesmo tempo 4 lotes, dos quais um recebia hipófise e os outros três cérebro ou tiróide, ambos de *Philodryas* sp., sôro fisiológico, hipotálamo bovino e ainda pitressina Parke, Davis.

Os ratos ficavam em jejum por 18 a 24 horas, inclusive privados de água e no momento da experiência recebiam por sonda gástrica 5 cm³ de água, ligeiramente aquecida, para cada 100 gramas de peso corporal. O material a ser testado era injetado subcutaneamente em volume de 0.2 cm³ e nas doses, para cada animal, de 2 hipófises, 1 tiróide, 4 mg de pó de hipotálamo bovino, 2 a 4 mg de cérebro e 0.004 U de pitressina por 100 gramas de peso.

Realizamos 5 experiências, com um total de 32 ratos, divididos em 8 lotes de 4 animais. Para maior segurança nos resultados observados, utilizavamos o mesmo lote, em dias diferentes, de tal maneira que o tratado com hipófise no primeiro dia, na outra experiência tomava sôro fisiológico. Dêste modo, além do contrôle de outros grupos, o próprio lote servia de contrôle (cross-test).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na apreciação dos resultados mais importantes que o volume total eliminado nos 180 minutos é o tempo de maior aumento, pois é compreensível que quanto mais potente fôr a preparação, mais tardiamente aparece o maior débito de urina, num dos intervalos de 15 minutos.

No Quadro I, que exprime a média aritmética dos volumes encontrados em nossas experiências, podemos notar a grande diferença no total eliminado entre os tratados com hipófise e os contrôles, durante o tempo de nossa observação.

A Fig. 2 dá idéia mais objetiva dos resultados encontrados.

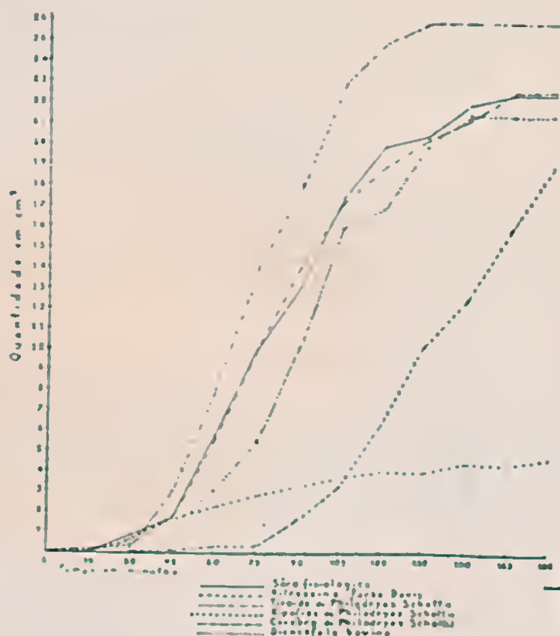


FIG. 2

Curvas de excreção de urina.

Pode-se notar que a tiróide produziu um leve aumento no total eliminado. Pela curva de excreção (Fig. 2) podemos deduzir a grande riqueza do princípio na hipófise, mormente si considerarmos o total nos 180 minutos. No entanto convem recordar que o material, injetado em suspensão, pode perfeitamente ser absorvido mais lentamente, o que interfere não só na intensidade como na duração do efeito. Si analizarmos a curva, verificamos que a ação da hipófise é mais prolongada, mas não tão intensa quanto a da pitressina. Com efeito, já nos primeiros 15 minutos ha presença de urina nos tratados com hipófise, ao passo que tal acontece, nos que receberam pitressina, só a partir do 30.° minuto. Ainda mais, o maior aumento no lote tratado com hipófise aparecendo aos 45 minutos não significa necessariamente aquela ação diurética assinalada por Magnus e Schäfer (9), nem menor riqueza do princípio, mas pode correr por conta da não absorção da substância ativa.

QUADRO I

Tempo	Sôro fisiológico		Pitressina		Hipófise serpente		Tiróide serpente		Cérebro serpente		Diencéfalo boi	
	Total	Aum. 15'	Total	Aum. 15'	Total	Aum. 15'	Total	Aum. 15'	Total	Aum. 15'	Total	Aum. 15'
15'	0	0	0	0	0.1	0.1	0.2	0.2	0	0	0	0
30'	0.75	0.75	0	0	0.6	0.5	0.2	0	0.33	0.33	0	0
45'	1.75	1	0.06	0.06	1.7	+ 1.1	3	2.8	1.66	1.33	0.35	0.35
60'	5.75	4	0.26	0.20	2.25	0.55	8	5	5.66	4.0	3	2.65
75'	10	4.25	0.26	0	2.87	0.62	14	+ 6	10	+ 4.34	5.5	2.5
90'	13	3	1.66	1.4	3.25	3.38	18	4	14	4	10	4.5
105'	17.5	+ 4.45	3.33	1.67	3.75	0.50	23	5	17.33	3.33	16	+ 6
120'	20	2.5	6.33	3	4	0.25	25	2	19	1.67	17	1
135'	20.5	0.5	10.33	+ 4	4	0	26	1	20.33	1.33	20	3
150'	22	1.5	12.66	2.33	4.5	0.50	26	0	21.33	1.0	21.5	1.5
165'	22.5	0.5	16	3.33	4.5	0	26	0	22.66	1.33	21.5	0
180'	22.5	0	19	3	4.75	0.25	26	0	22.66	0	21.5	0

Eliminação total e aumentos parciais (15') em centímetros cúbicos. Assinalado com uma cruz o maior aumento.

A escolha do pó de diencéfalo bovino, do qual usamos uma área de um centímetro de diâmetro na zona hipotalâmica de implantação do pedículo hipofisário, nas experiências contrôles, foi baseada no interêsse em se examinar êste pó, dadas as relações existentes entre esta parte do sistema nervoso e o aparelho renal, na patologia humana. Nas nossas condições experimentais encontramos uma ação inibidora intensa, mas de pequena duração.

Das experiências realizadas pode-se concluir pela presença de uma substância antidiurética na hipófise de serpentes do gênero *Philodryas*.

RESUMO

Os autores, usando o método proposto por Burn, estudam a ação antidiurética da hipófise total de serpentes ovíparas, não venenosas, do gênero *Philodryas*.

ABSTRACT

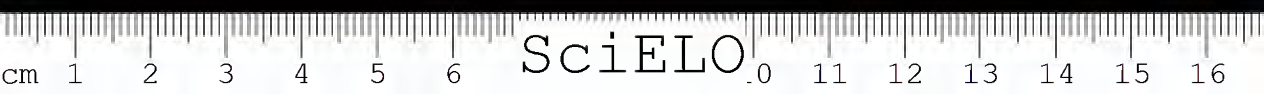
According to the method of Burn and with the dosis of 2 glands for each rat subcutaneously injected, it was obtained an antidiuretic action with the hypophysis of oviparous snakes belonging to the genus *Philodryas*.

BIBLIOGRAFIA

1. *De Lawder, A. M.; Tarr, Lloyd & Geiling, E. M. K.* — J. Pharm. a. exp. Therap. **51**: 142. 1934.
2. *Heller, H.* — J. Physiol. **99**: 246. 1941.
3. *Boyd, Eldon M. & Dingwall, Malcolm* — J. Physiol. **95**: 501. 1939.
4. *Gilman, A. & Goodman, L.* — J. Physiol. **90**: 113. 1937.
5. *Hare, K.; Hickey, R. C. & Hare, R. S.* — Am. J. Physiol. **134**: 240. 1941.
6. *Theobald, G. W. & White, M.* — J. Physiol. **78**: 18 P. 1933.
7. *Schaffer, N. K.; Cadden, J. F. & Stander, H. J.* — Endocrinology **28**: 701. 1941.
8. *Burn, J. H.* — Biological standardization — Oxford Medical Publications 1937, p. 69.
9. *Magnus & Shäfer, C. A.* — in *Van Dyke, H. B.* — The physiology and pharmacology of the pituitary body — Univ. Chicago Press, 1936, p. 352.

(Trabalho da Secção de Endocrinologia do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 12-10-42 e dado à publicidade em fevereiro de 1943).




cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
11 12 13 14 15 16

591.19:612.492

SUBSTÂNCIAS ANDRÔGENICAS NAS GÔNADAS DE SERPENTES DOS GÊNEROS *BOTHROPS* E *CROTALUS*

POR

JOSÉ R. VALLE & LUIZ A. R. VALLE

A presença de hormônio masculino nos testiculos de vertebrados tem sido assinalada, desde os trabalhos de Martins e Rocha e Silva (1), Moore, Gallagher e Koch (2). Apesar de relativamente baixa a concentração de substâncias androgênicas nas glândulas sexuais de touros e de caprinos, já foi referida a existência delas em testículos de peixes, pelo grupo de Chicago, e mais recentemente no salmão por Hazleton e Goodrich (3).

Tivemos a oportunidade de preparar um extrato de testículos de ofídios e de ensaiá-lo com resultado positivo em capões e ratos castrados. Nesta nota resumimos o método seguido e os resultados encontrados. O ensaio quantitativo de substâncias estrogênicas nos ovários será objeto de próxima publicação.

MATERIAL E EXTRAÇÃO

No periodo de março a maio foram autopsiadas 324 cascaveis e jararacas mortas no serpentário dêste Instituto. As gônadas dos 79 exemplares machos, pesando no total 107g, foram trituradas e coletadas em alcool a 96%. Terminado aquele período, o alcool foi filtrado e o material glandular extraído com novo volume de alcool em aparelho de refluxo durante 4 horas. As frações alcoólicas foram reunidas e distiladas e o bagaço, pesando sêco 12g, desprezado. O liquido xaroposo obtido, avermelhado e de cheiro pronunciado, foi extraído em funil de separação 4 vêzes com 20 cm^3 de éter de cada vez. As frações etéreas foram evaporadas e o resíduo oleoso, misturado a quente com óleo de amendoim até o volume de 10.7 cm^3 (1 cm^3 = 10 g de órgãos frescos).

Pesquisamos a atividade androgênica dêste extrato em ratos castrados tratados com colchicina e em capões Leghorn. No primeiro caso seguimos em linhas gerais o método estudado primeiramente por Martins (4) e ha pouco por

Burkhart (5). O test em capões foi feito conforme as normas propostas por Gallagher e Koch (6).

RESULTADOS E COMENTÁRIOS

a) **Peso vesicular e mitoses na próstata de ratos castrados.**

Empregamos um total de 10 ratos castrados 40 a 50 dias antes e pesando de 91 a 136 g. O material a ensaiar foi injetado nas doses de 0.2 a 2.0 cm^3 e a autópsia feita 48 horas após a última injeção e 7 horas depois da injeção subcutânea de colchicina (0.2 mg/100 g). Os resultados vêm sumariados no Quadro I.

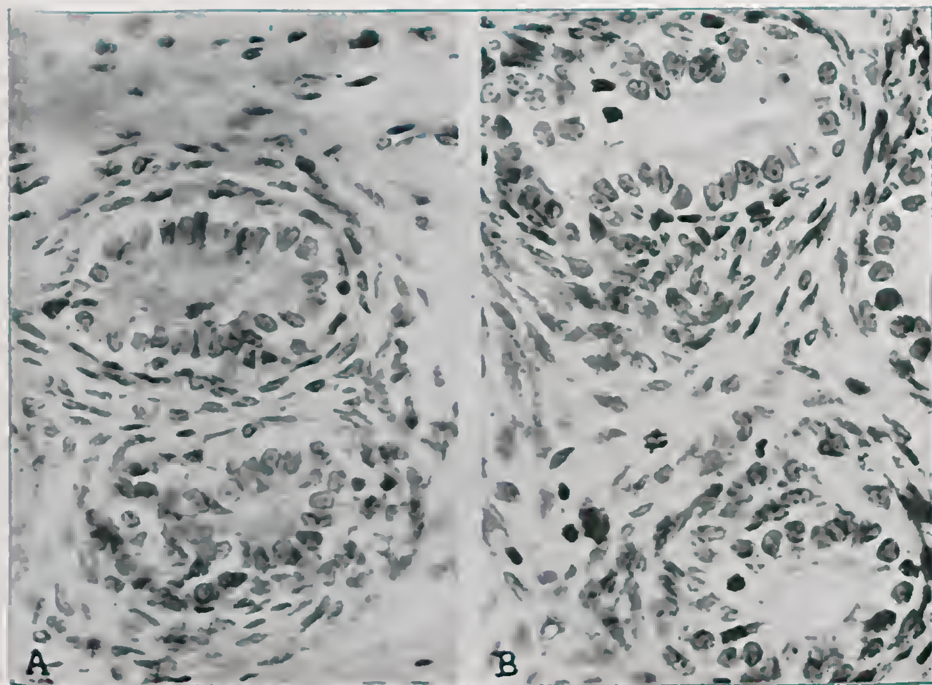
Não se observou diferença entre o peso das vesículas dos animais contrôles injetados com óleo puro e dos animais tratados com o extrato. A presença de substâncias androgênicas foi deduzida, porém, da contagem das células em mitose no epitélio prostático. Nos animais testemunhas achamos a média de 6.3 figuras mitóticas, enquanto que nos tratados com o extrato a média foi maior, embora incluindo os animais que receberam doses insuficientes de 2 e 5 gramas de tecido testicular fresco. Não foram contadas as mitoses observadas no tecido conjuntivo muscular (Fig. 1).

QUADRO I

Preparação	Volume injetado (cm^3)	Peso do rato (g)	Peso das vesiculas (mg)	Número de mitoses na próstata
Óleo puro	1 × 0.2 = 0.2	91	6	7
" "	4 × 0.5 = 2.0	132	7	5
" "	4 × 0.5 = 2.0	101	5	7
" "	1 × 0.2 = 0.2	94	6	6
Média		104.5	6	6.3
Extrato test.	1 × 0.2 = 0.2	96	10	5
" "	2 × 0.25 = 0.5	136	7	7
" "	2 × 0.25 = 0.5	100	4	10
" "	2 × 0.5 = 1.0	120	6	17
" "	2 × 0.5 = 1.0	118	5	16
" "	4 × 0.5 = 2.0	141	7	16
Média		118.5	6.5	11.8

b) **Crescimento da crista de capões.**

Empregamos 3 galos castrados: 2 injetados com 1 cm^3 do extrato, repartido em injeções diárias de 0.2 cm^3 intramuscularmente e o 3.º, como contrôle, com extrato ovariano após separação das substâncias estrogênicas. Os capões foram mantidos alguns dias antes e durante o tratamento nas mesmas condições de iluminação.



A diferença entre as somas do comprimento e da altura da crista no 1.º e no 6.º dia serviu de critério para a avaliação da atividade do extrato (vêr Quadro II). Um crescimento da crista de 5 mm na soma do comprimento mais a altura corresponde aproximadamente a 10 unidades de androsterona. Naturalmente, êste dado quantitativo é apenas aproximado. Valores mais exatos seriam obtidos si fossem feitas dosagens paralelas com o hormônio sintético.

Os resultados positivos de Hazleton e Goodrich (3) foram observados em capões na dose correspondente a cêrca de 60 g de glândulas frescas. Nos nossos ensaios o extrato testicular foi ativo, como vimos, na dose 6 vêzes menor. Além disso, aqueles autores colheram o material glandular na época de reprodução dos salmões, enquanto que os nossos ofídios foram autopsiados no outono.

QUADRO II

Capão No.	Peso (g)	Preparação	Dose	Crista em mm			Unid. galo capão
				1.° dia C + A	6.° dia C + A	Dif. mm	
7	2.100	Ext. test.	1cm³ = 10g	80	82	+ 2	4
35	1.900	"	"	83	88	+ 5	10
71	1.900	Ext. ovar.	1cm³ = 100g	64	64	0	0

Como não sabemos de maneira segura si a atividade sexual destas crotalídeas independe das estações, seria interessante o estudo comparativo do teor em andrógenos de testículos obtidos nas diversas épocas do ano. Por outro lado, Moore (7) lembra a possibilidade de certos reptis das regiões tropicais terem a sua atividade reprodutora independente da estação anual.

Do que ficou exposto podemos concluir que nos testículos das *Crotalidae* existem substâncias androgênicas ativas em aves e mamíferos.

RESUMO

Ensaiamos em capões e em ratos castrados tratados com colchicina um extrato de testículos de 79 cascavéis e jararacas. Com doses equivalentes a 10 g de tecido glandular fresco em 1 cm³ de óleo de amendoim, foram observados resultados positivos. Os testículos de *Crotalidae* contém, portanto, substâncias androgênicas ativas em aves e mamíferos.

ABSTRACT

An alcoholic testicular extract of 79 snakes (*Bothrops jararaca* and *Crotalus terrificus terrificus*) was assayed in capons by the comb method and in spayed colchicine treated rats. With a total dosis of 10 g of glandular tissue in 1 cm³ of arachnis oil a positive effect was observed in both tests. Testicular extract of *Crotalidae*, therefore, has androgenic activity in fowls and mammals.

BIBLIOGRAFIA

1. *Martins, Th. & Rocha e Silva, A.* — Action des extraits testiculaires sur les vésicules séminales des souris chatrées — C. R. Soc. Biologie 102: 485.1929.

2. *Moore, C. R.; Gallagher, T. F. & Koch, F. C.* — The effect of extracts of testis in correcting the castrated condition in the fowl and in the mammal — Endocrinology **13**: 367.1929.

3. *Hazleton, L. W. & Goodrich, F. J.* — A note on the presence of male sex hormone in fish testes — J. Amer. Pharm. Ass. **26**: 420.1937.

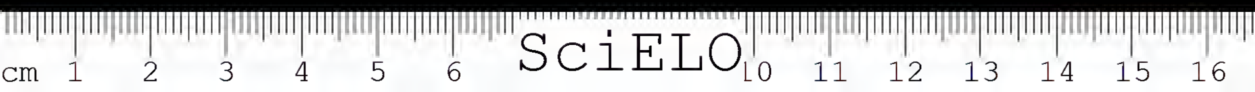
4. *Martins, Th.* — Test rapide de l'hormone masculine: mitoses dans la genitalia accessoire des males castrés — C. R. Soc. Biologie **126**: 131.1937.

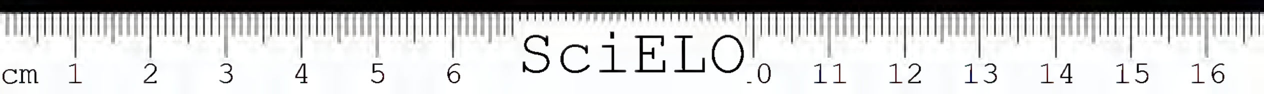
5. *Burkhart, E. Z.* — A study of the early effects of androgenic substances in the rat by the aid of colchicine — J. Exp. Zool. **89**(1): 135.1942.

6. *Gallagher, T. F. & Koch, F. C.* — The quantitative assay for the testicular hormone by the comb-growth reaction — J. Pharm. Exp. Ther. **55**: 97.1935

7. *Moore, C. R.* — Biology of the testes — *in* Sex and Internal Secretions, 2nd ed. p. 356, Baltimore, W. Wilkins Co., 1939.

(Trabalho da Seção de Endocrinologia do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 12-10-42 e dado à publicidade em fevereiro de 1943).




cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
11 12 13 14 15 16

612.492

TENEUR EN PROLACTINE DE L'HYPOPHYSE HUMAINE SELON LE SÊXE

PAR

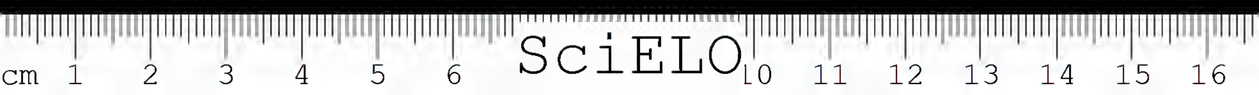
JOSÉ R. VALLE et LUIZ A. R. VALLE

La présence de la prolactine dans l'hypophyse et dans les liquides organiques de certains vertébrés a été révue par Riddle et Bates (1) et plus récemment encore, par Riddle (2). En 1935, Lyons et Page (3) ont été les premiers à isoler l'hormone de l'urine des femmes lactantes et Lyons (4) de celle des nouveaux-nés. Morató, Albrieux et Fraenkel (5), employant la méthode proposée par l'un de nous, ont démontré la présence de l'hormone dans l'hypophyse des lactants. Chance, Rowlands et Young (6) ont comparé la teneur en thyrotrophine, gonadotrophine et prolactine des hypophyses humaines, bovines, equines, porcines et ovines. L'hypophyse la plus riche en prolactine est celle du mouton, puis celle du boeuf, de l'homme, du porc et, en dernier, celle du cheval. Selon ces auteurs la teneur en prolactine de la poudre du lobe antérieur des hypophyses humaines sechées à l'acétone serait de 59 milles unités internationales par 100 g ou 0.59 u.i. par mg. Nous avons eu l'occasion de vérifier l'activité galactogenique des hypophyses humaines selon le séxe et nous présentons ici les résultats de nos déterminations.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Nos essais ont été faits avec le matériel glandulaire obtenu, par deux fois, d'autopsies humaines. A la première, en Mai de 1941, nous avons assembles 67 hypophyses de cadavres d'adultes sans regarder le séxe, et à la seconde, au commencement de l'hiver entre 14 Juin et 24 Juillet, nous avons reuni 36 hypophyses d'homme de 18 à 85 ans et 23 hypophyses de femmes non lactantes de 18 à 95 ans des quelles 10 au dessus de 40 ans.

Les hypophyses ainsi que les morceaux de foie pour les expériences de contrôle ont été mises dans l'acétone et chaque semaine, on les apportait au



laboratoire, pour être replacées dans une nouvelle quantité d'acétone et ensuite remisées au refrigerateur jusqu'à son emploi. Après la trituration du matériel nous avons pu avoir quatre portions: a) poudre de foie humain; b) 5300 mg de poudre d'hypophyse totale (poids moyen de la glande sèche 79 mg); c) 1426 mg de poudre du lobe antérieur de l'hypophyse masculine (poids moyen du lobe antérieur sec 40 mg): d) 1072 mg de poudre du lobe antérieur de l'hypophyse féminine (poids moyen du lobe antérieur 47 mg).

La deuxième portion extraite avec une solution alcoolique alcaline à pH 9 jusqu'à 11, et précipitée à pH 6, suivant la méthode de Bates et Riddle (7) nous a donné 690 mg d'une préparation que nous appelons *extrait initiel*. Les autres portions, extraites au moment de l'emploi avec une solution aqueuse alcaline, ont été centrifugées, et l'insoluble écarté. Nous avons pris toutes nos précautions pour que l'extraction fut la même non seulement celle de la poudre des hypophyses mais aussi celle de la poudre de foie employée dans nos expériences de contrôle. Comme test, nous avons employés un total de 63 pigeons adultes des deux sèxes, fistulés, injectés subcutanément pendant 4 jours et autopsiés 96 heures après la première injection pour la pesée des bourses laterales du jabot. La valeur quantitative de la réponse a été déduite de la courbe obtenue dans notre Laboratoire avec la préparation internationale de la prolactine, suivant la méthode décrite minutieusement dans un travail antérieur (8). Les essais ont été faits en Juin et Août de 1941 et répétés en Mai de 1942; pendant cet intervalle les préparations ont été conservées à basse température.

RÉSULTATS ET COMENTAIRES

a) *Foie humain*: Dans une première série nous avons employé un total de 20 mg pour chacun des 2 pigeons et le poids moyen des engluvies fût de 729 mg. Dans un sécond groupe de 4 pigeons, en injectant la même dose, le poids moyen des engluvies fût de 831 mg. Ces poids sont les mêmes de la valeur normale des bourses laterales des jabots des pigeons non traités.

b) *Extrait initiel*: Dans une première série nous avons employé la dose totale de 20 mg pour chacun des 4 pigeons injectés. Le poids moyen des engluvies a été 4907 mg pour 300 g de poids corporel, ce qui répresente quantitativement dans nos conditions expérimentales, l'effet de plus de 55 u.i., c'est-à-dire, au moins 2.7 u.i. par mg. Un essai fait de nouveau une semaine après mais employant la dose totale de 10 mg pour chacun des 4 pigeons injectés, a donné comme poids moyen des bourses laterales du jabot 2718 mg pour 300 g de poids corporel, ce qui répresente un total de 18 u.i. Dans le troisième essai

avec 10 mg pour chacun des 3 pigeons traités, les engluvies ont pesées 3745 mg, ce qui correspond à 34 u.i.

A cause de la variation des résultats: 2.7, 1.8 et 3.4 u.i. par mg, et pour le plus grand soin dans l'interpretation quantitative des réponses, nous avons traités 5 nouveaux groupes de pigeons avec des doses croissantes de 2, 4, 6, 8 et 10 mg de la même préparation. On peut voir dans le Tableau I les résultats obtenus. L'activité moyenne de l'*extrait initiel* comme dans les cas précédents est: de 2.6 u.i. par mg.

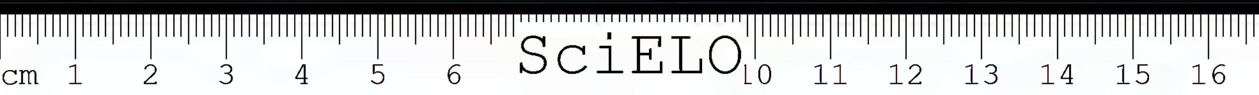
Tableau I

Groupe	Nombre de pigeons	Dose (mg)	Poids moyen à l'autopsie (g)	Poids moyen des engluvies (mg/300 g)	Poids moyen des engluvies aprés fixation au Bouin (mg/300 g)	u.i. par mg
A	3	2	277	1244	991	2.5
B	4	4	298	1970	1445	2.5
C	4	6	292	2300	1933	2.3
D	4	8	290	2954	2634	3.0
E	3	10	285	2988	2571	2.5

c) *Hypophyses d'hommes*: En deux séries de déterminations, employant la dose totale de 20 mg de la poudre du lobe antérieur pour chacun des 4 pigeons nous avons obtenu 2326 et 2016 mg pour le poids moyen des bourses laterales. Ces valeurs se rapportent respectivement à 14 et 12 u.i., moyenne de 0.65 u.i. de prolactine par mg.

d) *Hypophyses de femmes*: Les essais ont été faits au même temps que les précédents. Chaque fois nous avons employé la même dose de poudre et le même nombre de pigeons. Le poids des engluvies ont été de 3204 et 3028 mg, valeurs qui se rapportent à 25 et 24 u.i. de prolactine, la moyenne de 1.2 u.i. par mg.

Quoique les résultats décrits soient très intéressants puisqu'ils accusent une plus grande concentration hormonale chez l'hypophyses des femmes, nous nous sommes decidés à des nouvelles constatations en employant un plus grand nombre de pigeons et en nous astreignant à la méthode statistique quant à l'analyse des résultats obtenus. Dans le Tableau II nous présentons ces résultats. On y remarquera que la moyenne des poids des engluvies est plus elevée dans le groupe de pigeons traités par l'extrait d'hypophyses féminines; nonobstant, cette différence est plus basse que celle enregistrée dans les essais préliminaires. L'application de la formule $m'-m'' / \sqrt{E_1^2 + E_2^2}$ mise en discussion par



Burn (9), révèle que cette différence peut à peine dépendre de la variation individuelle aux réponses à l'hormone.

TABLEAU II

Pigeon No.	Poids à l'autopsie (g)	Préparation	Dose (mg)	Poids des engluvies (mg/300 g)	U. i. par mg (*)
1	298	Hypophyse ♂	20	1791	
2	295	"	"	1093	
3	272	"	"	1781	
4	325	"	"	1306	
5	270	"	"	1350	
6	280	"	"	1451	
7	322	"	"	1309	0.25
Moyenne	295 ± 13.5			1441 ± 162	
1	251	Hypophyse ♀	20	1536	
2	314	"	"	1734	
3	295	"	"	1688	
4	335	"	"	1478	
5	332	"	"	1889	
6	280	"	"	1296	
7	243	"	"	1438	
8	304	"	"	1579	
Moyenne	294 ± 21.6			1580 ± 118	0.40

(*) L'activité est de beaucoup plus basse que celle qui a été obtenue aux essais préliminaires. La cause peut être due à une extraction moins complète ou à la réduction de l'activité par le temps de conservation.

Les seules données dont nous disposons pour les comparer avec les résultats décrits antérieurement sont celles de Chance, Rowlands et Young (6). En supposant qu'ils aient employé une égale quantité d'hypophyses masculines et féminines, le contenu trouvé de 0.59 u.i. par mg s'éloigne un peu des valeurs de notre dernier essai de 0.25 u.i. par mg pour les dypophyses masculines et 0.40 u.i. par mg pour les hypophyses féminines. Une comparaison plus exacte pourra être faite avec l'activité de l'*extrait initiel* vu que ces auteurs ont aussi essayé une préparation similaire à la notre, obtenue par la méthode de Bates et Riddle. Chance, Rowlands et Young donnent la teneur de 22 milles unités internationales pour 100 g avec une préparation réprésentant 14.5% de poudre initielle. Avec 5300 mg de poudre d'hypophyse totale nous avons obtenu 690

mg (13%) d'un *extrait initiel* dosant 2.6 u.i. par mg ce qui correspond à peu près à 34 milles unités pour 100 g d'hypophyses dessechées.

On comprendra que les données citées plus haut n'ont qu'une valeur relative. Il n'a pas été possible, par exemple, de selectioner le matériel selon l'âge et la *"causa mortis"* des donneurs, encore en trop petit nombre. On ne peut pas naturellement conclure qu'il n'existe pas une différence dans la teneur en prolactine de l'hypophyse humaine selon les conditions physiologiques. Chez la femme, comme il arrive chez d'autres especes, la concentration hormonale doit varier, par exemple, à l'occasion de la grossesse et de la lactation. Ainsi Ehrhardt et Voller (10) ont étudié la concentration de la prolactine dans le sang et l'urine des femmes pendant le cycle menstruel et ont verifié qu'elle est plus forte dans les périodes de l'ovulation et de la menstruation.

L'existence de la prolactine dans les hypophyses masculines n'a rien d'extraordinaire puisque l'hormone n'exerce pas seulement une action lactogénique dans l'organisme. Riddle (11) a déjà noté que le nom de l'hormone a été improprement choisi, à cause des actions métaboliques générales qui sont indépendantes du phénomène de la lactation.

RÉSUMÉ

De l'essai comparatif sur des pigeons, de la teneur en prolactine des hypophyses humaines, il a pu être déterminé dans les conditions expérimentales décrites, que la concentration de l'hormone dans l'hypophyse féminine est plus grande que dans les hypophyses masculines. Au point de vue statistique, cependant, cette différence ne peut pas être considerée comme significative.

La poudre du lobe antérieur des hypophyses des cadavres humains d'adultes possède une activité lactogénique correspondante au moins à 0.32 u.i. par mg. Un *extrait initiel* obtenu selon la méthode de Bates et Riddle a montré l'activité se rapportant a 2.6 u.i. par mg.

Ces données ont naturellement une valeur relative puisque la teneur en prolactine de l'hypophyse humaine doit souffrir des variations notamment dans les différentes conditions physiologiques de la femme.

Nous remmercions Mr. le Prof. Paulo Tibiriçá, de la Faculté de Médecine, le matériel humain mis à notre disposition et Mr. le Prof. Walter Leser l'analyse statisque des résultats obtenus.

RESUMO

Do ensaio comparativo, em pombos, do teor em prolactina de hipófises humanas, pudemos determinar, nas condições experimentais descritas, que a con-

centração do hormônio na hipófise feminina é maior do que na dipófise masculina. Esta diferença, entretanto, analisada estatisticamente, não se mostrou significativa.

O pó de lobo anterior de hipófises de cadáveres humanos adultos possue atividade lactogênica correspondente a pelo menos 0.32 u. i. por mg. Um *extrato inicial*, obtido segundo o método de Bates e Riddle, mostrou atividade equivalente a 2.6 u.i. por mg. Êstes valores, entretanto, são relativos, pois o teor em prolactina da hipófise humana deve sofrer variações, principalmente nas diversas condições fisiológicas da mulher.

BIBLIOGRAPHIE

1. *Riddle, O. & Bates, R. W.* — The preparation, assay and actions of lactogenic normone — Sex and Int. Secretions. Baltimore, 1939. 2nd ed. cap. XX:1088.
2. *Riddle, O.* — Endocrine aspects of the physiology of reproduction — Annual Review of Physiology 3:573.1941 cf. p. 595.
3. *Lyons, W. R. & Page, E.* — Detection of mammotropin in the urine of lactating women — Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 32:1049.1935.
4. *Lyons, W. R.* — The hormonal basis for "witche's milk" — Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 37:207.1937.
5. *Morató Manaro, J.; Albrieux, A. & Fraenkel, L.* — Prolactin en la hipofisis del recien nacido — Rev. Ginec. Obst. S. Paulo 3:269.1939.
6. *Chance. M. R. A.; Rowlands, I. W. & Young, F. G.* — Species variation in thyrotrophic, gonadotrophic and prolactin activities of the anterior hypophyseal tissue — J. Endocrinology 1(3):239.1939.
7. *Bates, R. W. & Riddle O.* — The preparation of Prolactin — J. Pharmacology a. Exp. Therap. 55:365.1935.
8. *Valle, J. R.* — Padronisation biologique de la prolactine — Mem Inst. Butantan 15:9.1941.
9. *Burn, J. H.* — Biological standardization. Oxford Press. London, 1937.
10. *Ehrhardt, K. & Voller, H. F.* — Untersuchungen über das Laktationshormon des Hypophysenvorderlappens — Endokrinologie 22:19.1939.
11. *Riddle, O.* — Lactogenic and mammogenic hormones — J. Amer. Med. Assn. 115(26): 2276.1940.

(Trabalho da Seção de Endocrinologia do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 12-10-42 e dado à publicidade em fevereiro de 1943).

612.019:599.74442

EFEITOS DO TRATAMENTO PROLONGADO DE CADELAS COM O PROPIONATO DE TESTOSTERONA

POR

THALES MARTINS; JOSÉ R. VALLE & ANANIAS PORTO

Há tempos vínhamos estudando na Seção de Endocrinologia do Instituto Butantan o fenômeno da micção em cães, observando para isto animais dos dois sexos: inteiros, castrados e tratados com propionato de testosterona. É sabido que nos cães há um verdadeiro "dimorfismo" funcional quanto á postura no momento da emissão da urina; os machos ao atingirem a puberdade começam a urinar de maneira "sui generis", levantando uma das patas trazeiras. A influencia hormonal não ficou, porém, manifesta: os castrados continuavam a urinar como os normais, e as femeas, apesar do tratamento prolongado com a substância androgênica, a exibir o mesmo comportamento feminino no ato da micção. Em experiências, em curso, iniciamos o tratamento de animais de idade mais tenra, para eliminar a possivel precocidade da diferenciação. Todavia, o material desta série foi aproveitado para um estudo dos efeitos morfológicos do propionato de testosterona nas cadelas, e que aqui vão resumidos.

MATERIAL E RESULTADOS

Empregamos 5 cadelas: uma contrôle e quatro tratadas, das quais duas inteiras, mãe e filha, e duas castradas.

Cadelas No. 1 e No. 2: Nascidas em 10 de junho de 1939, da mesma ninhada tipo Fox. A de No. 1 serviu de contrôle e a de No. 2 foi tratada com propionato de testosterona (*), 5 a 10 mg semanalmente em injeções subcutâneas e intramusculares, durante o período de 16 de agosto de 1939 a 20 de fe-

(*) Empregamos o *Testoviron* da Casa Schering e agradecemos aqui as amostras gentilmente cedidas.

vereiro de 1940. Após a segunda injeção a vulva da tratada já se apresentava mais volumosa e o clitóris bem maior e mais rubro do que na contrôle. No fim do tratamento o orgão tinha o aspecto peniforme da fotografia. Vêr na Fig. 1 as fotografias A e B, que, aliás, já foram publicadas, com os nossos resultados na tése do Dr. Delascio (1). A curva ponderal vem registada no Gráfico anexo (Fig. 2). É provável que o hormonio masculino tenha influído no ritmo de crescimento da injetada, questão que já tem sido discutida para outras espécies, por exemplo o rato (2). Um mês depois de terminado o tratamento houve cio e fecundação, e, em maio de 1940, parto normal de 5 filhotes: 3 machos e 2 fêmeas.

Cadela No. 3: Filha da anterior No. 2. No período de 27 de setembro de 1940 a 5 de fevereiro de 1941, recebeu 20 injeções num total de 100 mg de propionato de testosterona. O peso corporal aumentou de 4.7 a 8.0 kg no final do tratamento. Em 29 de outubro de 1941, o clitóris já estava bem crescido e a vulva túrgida com secreção abundante. Embora decorridos quasi dois anos de terminado o tratamento, o clitóris ainda se mantem desenvolvido e penisoide. Em coelhas, no entanto, Hu e Frazier (33) observaram a regressão do orgão uma vez cessadas as injeções.

Cadela No. 4: Adulta de 7.0 kg. castrada em 9 de setembro de 1942. De 27 de setembro a 30 de outubro do mesmo ano recebeu 50 mg de propionato de testosterona, repartidos em 8 injeções subcutâneas. Já na segunda injeção a vulva se apresentava edemaciada e o clitóris congesto. No dia da castração havia corpos amarelos nos ovários e o endométrio estava em condições progestacionais (Fig. 3). Novo corte do útero no final do tratamento mostrou atrofia do orgão com reduzido número de glândulas endometriais. Embora se saiba das propriedades progestacionais da testosterona (4), não houve efeito neste caso. O tempo decorrido entre a castração e o início de tratamento póde ter prejudicado a observação, mas também Hartman (5), em macacas, não obteve endométrio progestacional, mesmo depois do emprego de grandes dóses de testosterona.

Cadela No. 5: Infantil de 2.6 kg. foi castrada e tratada como a anterior, durante o mesmo período de tempo. Findo o tratamento o clitóris estava penisoide, comparativamente mais crescido do que o da de No. 4.

Em resumo, o desenvolvimento penisoide do clitóris de cadelas tratadas com testosterona se obtem tanto nas fêmeas adultas quanto nas infantis, inteiras ou castradas. Numa cadela inteira o orgão não regrediu mesmo depois de 20 mêses de terminadas as injeções.

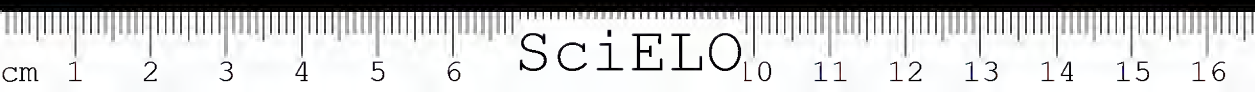
Não foram observadas modificações do comportamento feminino no ato da micção e nem consequências, num animal inteiro, quanto às funções reproduto-

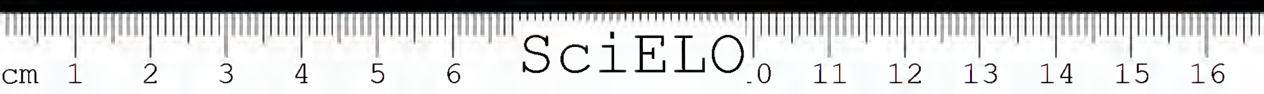
ras. Num caso, ainda, o tratamento não manteve as condições progestacionais do endométrio, observadas no dia da castração e nem impediu os fenômenos regressivos do útero.

BIBLIOGRAFIA

1. *Delascio, D.* — Tratamento da hemorragia uterina disfuncional (forma hiperfuncional) pelo propionato de testosterona. 137 pp., 47 figs. Tip. Siqueira, S. Paulo, 1942.
2. *Rubinstein, H. S. & Solomon, M. L.* — The growth stimulating effect of small doses of testosterone propionate in the castrate albino rat — Endocrinology **28**:229.1941.
3. *Hu, C. K. & Frazier, C. N.* — Masculinization of adult female rabbit following injection of testosterone propionate — Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. **42**:820.1939.
4. *Klein, M. & Parkes, A. S.* — Progesterone-like action of testosterone and certain related compound. — Proc. Royal Soc. London, S. B. **121**:547.1937.
5. *Hartman, C. G.* — Effect of testosterone on monkey uterus and administration of steroidal hormones in form of Deanesly-Parkes pellets — Endocrinology **26**:449.1940.

(Trabalho da Seção de Endocrinologia do Instituto Butantan
Entregue para publicação em novembro de 1942 e dado à publicidade em fevereiro de 1943).




cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

616.997:132.24322

ALGUNS ASPECTOS DA EVOLUÇÃO DO CRETINISMO E DO MONGOLISMO

POR

J. I. LOBO & LUCIANO DÉCOURT

Entre o cretinismo (hipotiroidismo congênito) e o mongolismo (idiotia mongólica) existem semelhanças que tornam, por vêzes, difícil a diferença entre ambos, sobretudo quando os elementos peculiares a cada uma destas condições são justamente os mais apagados dentro do conjunto sintomático.

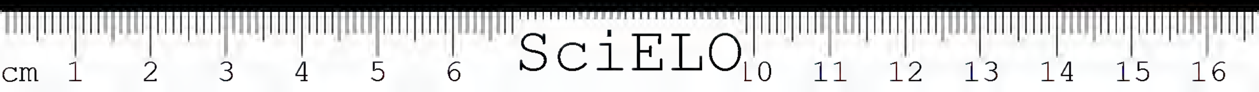
Recentes estudos histopatológicos de casos de mongolismo autopsiados nos primeiros dias ou meses de vida têm demonstrado (1) alterações da tiróide, de caráter de hiperatividade e de exhaustão da glândula. Porisso, a hipótese dum certo parentesco entre as duas afeções volta a parecer plausivel e talvez explique que determinados sintomas lhes sejam comuns.

A evolução, tanto espontânea como subordinada ao tratamento hormonal (tireoglobulina) revela, porém, diferenças marcadas entre ambas as condições e isto se torna de particular interêsse para aqueles casos limitrofes, em que um único ou poucos exames não conseguem, de início, dirimir a dúvida diagnóstica.

É nestas circunstâncias que as particularidades da *evolução* de cada caso e, em especial, o tipo de resposta ao tratamento instituido permitem um adequado esclarecimento.

Neste trabalho estudamos a evolução de três casos típicos de cretinismo (Z.C., A.O.P. e L.M.P., respectivamente, casos I, II e III) e um quarto em que, inicialmente, houve dúvida si se tratava de uma forma incompleta de hipotiroidismo infantil ou de uma idiotia mongólica (A.M.A., caso IV) e o estudo de cuja evolução nos convenceu pertencer antes a esta última.

Êstes quatro casos já foram objeto de publicação por parte de um de nós (2) em trabalho onde êles figuravam num conjunto de casos de nanismo da mais variada etiologia e, apenas como tais, eram estudados.



Dos três casos indiscutíveis de cretinismo, o primeiro, Z. C., era duma criança de 5 anos, que nunca recebera tratamento especifico e, porisso, apresentava o quadro integral do mixedema congênito; o segundo e o terceiro já haviam sido tratados, embora irregularmente, com tiróide dessecada; o quarto caso também tomára tiróide durante curto tempo.

CASO I — Z. C., fem., 5 a. 3 m.

Antecedentes: Naseeu a têrmo, tirada a forceps, sendo muito grande. O desenvolvimento até os 8 mêses de idade processou-se normalmente, conseguindo nesse tempo sentar-se com ajuda (sic). Mais ou menos quando tinha 1 ano os pais notaram que a paciente não se desenvolvia bem. Não gatinhava, não falava; a pele apresentava-se enrugada e não irrompiam os dentes. Além disso, apatia acentuada e sonolência.

Assim permaneceu até os 2 anos, sem quasi crescer, sem falar, sem andar. Data dessa época uma fotografia (Fig. 1) exibida pelos pais. Nessa ocasião (2 anos) despontou o primeiro dente, que, porém, não se desenvolveu. Mais tarde irrompiam outros dentes, que, também, não se desenvolviam.

Assim tem permanecido até hoje (5 a.), pois ainda não fala, não anda. Parece cada vez mais inchada e os cabelos caem com facilidade. O pai informa que a paciente sofre de prisão de ventre acentuada (5 a 6 dias). Nunca fez qualquer tratamento. Emite sons graves, roucos e guturais.

Exame objetivo: É uma criança disforme, de genuino tipo mixedematoso e facies cretino (Fig. 2). Alt. 73 cm 6; distância vertex-pubis: 44.6 cm; púbico-plantar 29 cm. Pele bastante sêca e enrugada. Eczema sêco no couro cabeludo; exfoliação furfurácea, predominando nas porções superiores do corpo, principalmente rosto. Infiltração mixedematosa generalizada; alguns pêlos na região sacra e no dorso. Penugem no pubis e na face anterior do abdômen. Unhas quebradiças. Marmorização da pele. Fontanela bregmática aberta. Fenda palpebral estreita. Boca entreaberta. Lingua grossa. Hipertrofía amigdaliana. Ausência dos caninos, dos incisivos laterais superiores e dos segundos pre-molares. Tiróide não palpável. Ectasias venosas no torax. Frequência de pulso 90. Abdômen proeminente. Extremidades frias.

Dados complementares: Colesterol no sôro 208 mg %; M. B. impraticável. Radiografia: a) punho e mão: ausência de todas as epífises do metacarpo e das falanges. Ausência de todos os ossos do carpo, com exceção de um leve esbôço de ossificação do grande osso. Ausência da epífise distal do rádio; b) cotovelo: ausência de todas as epífises. c) joelho: epífises inferior do fêmur e superior da tibia pouco desenvolvidas; d) tornozelo: ausência das epífises distais da tíbia e do perôneo. Astragalo e calcâneo presentes. Idade óssea: 3 mêses, no máximo.

Evolução: Com o uso de tiróide Merck, na dóse de 0,025 em dias alternados, as melhoras foram espetaculares e rápidas: desinfiltração completa, mudança da fisionomia, etc. (Fig. 3).

O período de observação estende-se pelo prazo de 1 ano, durante o qual, apesar de doenças intercorrentes, os progressos realizados podem ser esquematizados da seguinte maneira:

Idade cronológica	*Estatura*	*Ossificação*
5 a. 3 m.	73.6 cm.	leve esbôço do grande osso. Idade óssea: 3 meses (Fig. 5).
5 a. 6 m.	78	franco desenvolvimento do grande osso; idade óssea: 6 meses (Fig. 6).
6 a.	81	esbôço do unciforme e aparecimento da epífise distal do rádio; idade óssea: 1 ano.
6 a. 3 m.	81.4	franco desenvolvimento do unciforme e da epífise radial; idade óssea: 1 para 1 ½ ano (Fig. 7).

Os incrementos estaturais em função do tempo (deste como dos casos seguintes) são bem visualizados através da curva respectiva representada na Fig. 19, onde também se representa a curva de crescimento mínimo normal entre 1 e 10 anos de idade.

Quanto à psicomotilidade, os progressos de Z. C. foram: com 1 mês de tratamento, vivacidade no olhar e nos movimentos espontâneos; após 2 mêses, começa a gatinhar; após 3 mêses, já beija a mãe, fala várias palavras e sustem-se de pé com ajuda.

Em seguida, sobrevem um periodo de quasi 3 meses, durante os quais a doente se subtraiu à nossa observação, tendo a mãe suspendido a administração da tiróide: o mixedema, como era de esperar, reapareceu.

Reiniciado depois o tratamento, voltaram as melhoras, si bem que em ritmo mais lento.

Após cêrca de 9 meses, desde o inicio do tratamento, Z. C. caminha com auxílio de terceiros.

Dos outros sinais, deve-se ainda mencionar o abaixamento do peso e sua ulterior regularização, o fechamento da fontanela bregmática, o crescimento dos cabelos (Fig. 4) e, após 1 ano de tratamento, a presença de todos os dentes deciduais.

CASO 11 — A. O. P., masc., 6 ½ anos.

Antecedentes: Nasceu pesando 5 kg; até 5 meses ainda parecia um recém-nascido. Continuou engordando sempre, era muito mole e a cabeça pendia facilmente para os lados. Aos 2 anos ainda não conseguia sentar-se e muito menos andar e falar. Não atendia a cousa alguma. Dos médicos consultados, uns achavam que o menino era raquítico, outros que sofria da tiróide. Começou nessa ocasião a tomar tiroidina Merck, 0.025 por dia, em dias alternados. A mãe informa que as melhoras só se tornaram sensíveis aos 3 ½ anos, quando principiou a andar e a falar. O crescimento se fazia, porém, muito lento e por etapas. Sempre que suspendia a tiróide engordava, o que aconteceu várias vêzes. A dentição iniciou-se aos 4 anos. Teve algumas doenças intercorrentes mal definidas, inclusive uma que ocasionou internação em hospital e durante a qual foi suspensa a medicação pela tiróide. Atualmente se encontra de

novo sob a ação do hormônio e, desde então, voltou a emagrecer e a mostrar maior disposição para brincar.

Exame objetivo: É uma criança de desenvolvimento mental muito retardado, com facies apalermado, ainda fala com embaraço. Estatura reduzida, ventre proeminente. Mede 89.2 cm de altura; dist. vertex-pubis: 49 cm; púbico-plantar: 40.2 cm; peso 15.880 kg. Pele sêca; cabeça grande; língua idem. Presentes os dentes deciduais. Tiróide impalpável. Pulso 92 (chorando). Genitália externa muito pouco desenvolvida: circuncizado. Aspecto físico retratado na Fig. 9.

Dados complementares: Colesterol no sôro: 316 mg %. M. B impraticável. Radiografia de punho e mão (Fig. 11): ausência de todas as epífises dos metacarpianos e falanges. No carpo apenas o grande osso, o unciforme, o piramidal e a epífise distal do rádio. Idade óssea: 2 ½ anos. Fotografia anterior, tirada ao lado de sua irmã D., 2 anos mais moça que o paciente, documenta que, pelo menos desde os 3 anos de idade, êste apresenta realmente uma estatura reduzida (Fig. 8).

Evolução: A dose de tiróide foi ajustada para 0.05 por dia, com o que a frequência do pulso se mantinha em tôrno de 90 por minuto e o peso se conservava em proporção com a altura que ia sendo alcançada. Os progressos na estatura e ossificação foram os seguintes:

Idade cronológica	*Estatura*	*Ossificação*
6 ½ anos	89.2 cm.	epífise distal do rádio; grande osso, unciforme e piramidal. Idade óssea: 2 ½ anos (Fig. 11).
7 a.	92	
7 ½	95	aparecimento do semilunar, das epífises dos 4 metacarpianos II a V, das primeiras falanges dos 4 dedos II a V, da falange distal do polegar; idade óssea: 3 ½ anos.
8 a.	97	epífises das falangetas do 3.° e 4.° dedo; desenvolvimento progressivo das epífises pre-existentes. Idade óssea: 4 anos (Fig. 12).
8 ½	98	sem modificação importante.

O peso oscilou em tôrno de 17.3 e 18.5 kg quando a altura atingiu respectivamente a 95 e 98 cm.

Houve três períodos de interrupção da tiróide, cada qual de um mês de duração, e separados um do outro por um intervalo aproximado de 6 meses.

Durante cada um dêles, houve nítido aumento do peso, apatia e sonolência; tendo um dêsses períodos coincidido com o inverno, o paciente acusou uma excepcional hipersensibilidade ao frio.

Dentição: Aos 8 anos, erupção do 1.° molar.

Psicomotilidade e inteligência: Discretos progressos na fala e na compreensão; gestos e olhar um pouco mais vivos.

CASO III — L. M. P., fem., 8 ½ a.

Antecedentes: Desde os 2 meses de idade que a mãe começou a notar o deficiente desenvolvimento somático da paciente; com 6 m. apresentava peso muito reduzido, pouco superior ao de quando nasceu (4.200 kg mais ou menos), exibia uma fisionomia aparvalhada, com a boca sempre entreaberta, a língua pendente; inchaço das pálpebras e do rosto, palidez, pele sêca e áspera. Sofre ainda desde os primeiros mêses de vida de prisão de ventre habitual, passando em média 8 dias sem evacuar. Estava sempre choramingando, irritada e não podia dormir. Assim permaneceu até a idade de 1 ano, época em que começou a articular as primeiras palavras (somente "papai" e "mamãe"). Passou o segundo ano de vida da mesma maneira. Com 2 anos principiou a dar os primeiros passos, sendo seu andar pesado, bamboleante, com quedas frequentes. Consultou um médico que fez diagnóstico de mixedema e receitou Elytiran. Tomava ½ comprimido ao dia durante 30 dias e descansava também 30 dias. Durante 2 ½ anos fez tratamento com Elytiran (6 tubos), tendo melhorado bastante. Tornou-se mais ativa, cresceu, passou a dormir bem. Mais tarde, a conselho médico tomou um vidro de Tireoidal, não tendo tão bons resultados como com Elytiran. Quando a paciente tomava Elytiran ficava murchinha (sic). Ultimamente tomou Pluriglandular, que fez mal, acentuando-se o inchaço. Apesar dos tratamentos realizados, a criança continua a apresentar pequeno desenvolvimento, ar aparvalhado, inchaço no rosto, principalmente nas pálpebras, e prisão de ventre (3 a 4 dias). Há 3 anos encontrava-se em tratamento com Salvarsan e bismuto (1 série de Salvarsan e 3 cxs. de Iodo-bisman). Não toma Elytiran ha 4 anos. Nestes últimos anos tem tomado tônicos, cálcio, banho de luz e o tratamento antiluético já assinalado. Somente depois de 1 ano de idade é que apareceram os primeiros dentes. É analfabeta, ainda fala com bastante dificuldade

Exame objetivo: Menina com ar aparvalhado, estatura reduzida, palidez do tegumento, pele sêca e áspera, infiltração mixedematosa difusa não muito acentuada. Pelos nos membros e no dorso. Altura: 96.3 cm; vertex-pubis: 52.8; púbico-plantar: 43.5. Peso: 16.940 kg. Boca entreaberta, língua pendente. Estão presentes ainda todos os dentes deciduais exceto o inc. inf. lat. dir. e os dois 1.° pre-mol. inf. que já caíram. Dos dentes permanentes, já irromperam os primeiros grandes molares. Pescoço grosso. Tiróide impalpável. Pulso: 72. Mãos grandes, largas, dedos curtos e grossos (Fig. 13).

Dados complementares: Colesterol no sôro: 370 mg %. Hb: 72%. Radiografia: a) punho e mão: todas as epífises dos metacarpianos e falanges estão presentes, bem como o grande osso, o unciforme, o piramidal e o semi-lunar. Faltam, para a idade cronológica da paciente, o escafóide, o trapézio, o trapezóide e a epífise inferior do cúbito; b) cotovelo: presente o condilo humeral, faltando, nas mesmas condições, a cabeça do rádio. Idade óssea: 4 a 5 anos.

Evolução: Uso contínuo de tiróide dessecada, na dose média de 0.10 por dia; curtos períodos de interrupção (10 dias) foram intercalados, isto quando a paciente se tornava muito agitada ou o peso tendia a caír em demasia.

Crescimento e ossificação foram os seguintes:

Idade cronológica	*Estatura*	*Ossificação*
8 ½ a.	96.3 cm.	Presentes todas as epífises dos metacarpianos e das falanges; grande osso, unciforme, piramidal e semi-lunar; epífise inferior do rádio. Idade óssea: 4 para 5 anos (Fig. 14).

Idade cronológica	*Estatura*	*Ossificação*
9 a.	100	
9 ½ a.	102.5	
10 a.	106.5	Presença do trapézio, trapezóide, escafóide e epífise inferior do cúbito. Idade óssea: 7 para 8 anos (Fig. 15).

As cifras ponderais correspondentes às estaturas supra mencionadas foram, em média, as seguintes: 16.9 kg; 18 kg e 19.4 kg.

Dentição: Durante 1½ ano de observação houve erupção dos seguintes dentes permanentes: os 2 inc. sup. por volta dos 9 anos e os 2 inc. med. inf. por volta dos 9½ anos; os 4 incisivos desenvolveram-se satisfatoriamente.

Inteligência e psicomotilidade: Progressos escassos. A paciente é extremamente irrequieta A fala melhorou, embora pouco; o vocabulário enriqueceu-se. Atende aos outros com mais presteza.

Outros sinais: A anemia melhorou com uso de Fe; o colesterol, com o tratamento hormonal, baixou a 224 mg %.

CASO IV — A. M. A., fem., 3 a.

Antecedentes: Diz a mãe que a criança desde 6 meses de idade não se desenvolve satisfatoriamente. Já teve sarampo e coqueluche; dos 6 meses até 2 anos sofreu de bronquite. Começou a andar aos 2 ½ anos. Os primeiros dentes surgiram aos 13 meses. Está começando agora a falar. .Diversos tratamentos não tiveram sucesso; somente um tratamento com tiroidina deu algum resultado. E' uma criança com ar aparvalhado, sempre com a boca entreaberta, indiferente ao meio ambiente.

Dados objetivos: Altura: 84.5; dist. vertex-pubis: 48; púbico-plantar: 36.5. Peso 13.850 kg. Discreto edema das extremidades inf. Fontanelas fechadas. Crânio largo, testa alta e larga, bossas frontais algo proeminentes; a face é chata e o nariz em sela. Boca entreaberta, lingua pendente: amigdalas hipertrofiadas e vegetações adenóides. Dentes de implantação normal, faltando apenas os segundos pre-molares superiores. Tiróide impalpável. Sopro sistólico rude e intenso sôbre o precórdio, com maior intensidade sôbre o foco da pulmonar, sem propagação para os vasos do pescoço. Ventre abaulado.

Dados complementares: Colesterol no sôro: 125 mg %. Radiografia: a) punho e mão: ausência de epifises dos metacarpianos e falanges, i.é., leve atraso da ossificação (cêrca de 6 meses). Carpo: epífise distal do rádio, gr. osso, unciforme e piramidal presentes; b) joelho: epífises distal do fêmur e sup. da tibia, presentes; rótula e epífise sup. do perôneo, ausentes (normal para a idade); c) tornozelo: epifises distais da tibia e perôneo presentes; astragalo, calcâneo, cubóide e terceiro cuneiforme, presentes; ausência das epífises dos metacarpianos (leve atraso, cêrca de 6 meses); d) coração: grande aumento global da área cardíaca. Ecg: espessamentos em QRS que está alargado. Predominância esquerda.

Evolução: Processou-se do seguinte modo, de acôrdo com a natureza e as etapas do tratamento:

A) Aos 3 anos (dados iniciais):

Altura: 84.5 cm. Peso: 13.85 kg.
Ossificação: epífise distal do rádio, grande osso, unciforme e piramidal (Fig. 16).
Idade óssea: 2 ½ anos.

Tratamento até B): tiróide na dose diária de 0.10 durante um total de 57 dias com intermitências.

B) Aos 3 anos e 5 meses:

Altura: 85.5 cm. Peso: 14.2 kg.
Ossificação: aparecimento da epífise do segundo metacarpiano e dum leve esbôço do semi-lunar; crescimento da epífise radial e das diáfises da mão.
Idade óssea: 3 anos.
Observação: intercurrência de gripe e frequentes diarréias com reação febril.

Tratamento até C): amigdalectomia e adenoidectomia aos 3 a. 6 m.; tiróide na dose diária de 0.075 durante um total de 95 dias, com intermitências regulares; suspensão dêste tratamento nos dois últimos mêses.

C) Aos 4 anos:

Altura: 90.2 cm. Peso: 15.6 kg.
Ossificação: todas as epífises dos metacarpianos e das falanges (exceto da falange proximal do polegar e das falanges I e II do dedo mínimo); franco crescimento do semi-lunar.
Idade óssea: de 3 ½ para 4 anos.
Dentição: erupção dos dois premolares super.
Fala: discreto progresso.

Tratamento até D): Uso esporádico de sais de Ca e de vitamina D; abstenção completa de tiróide.

D) Aos 4 anos e 5 meses:

Altura: 91.4 cm. Peso: 16.6 kg.
Ossificação: aparecimento das restantes epífises dos dedos; presença do trapézio; desenvolvimento das epífises preexistentes.
Idade óssea: pelo menos 4 ½ para 5 anos (Fig. 17).
Colesterol no sôro: 317 mg %.
Psicomotilidade: apatia, maior sonolência, quedas durante a marcha
Outros dados: peiora da prisão de ventre; pele mais sêca; não houve aparecimento de mixedema.
Facies: (ver Fig. 18).

DISCUSSÃO

Época de início dos sintomas: Excesso de peso ao nascer foi observado nos casos I, II e III, que são típicos de cretinismo. Deficiência de crescimento foi notado mais ou menos aos 8, 5, 2 e 6 meses de idade, respectivamente, em cada caso. Os sinais morfológicos próprios do mixedema congênito e relativos ao aspecto físico (ar aparvalhado, boca entreaberta, língua pendente, pele áspera, cabelos escassos e quebradiços, etc., e a própria infiltração mixedematosa do tegmento) só aparecem em geral alguns meses (de 3 a 6) após o nascimento. Nem sempre se trata duma observação defeituosa por parte dos pais, porquanto a fotografia da paciente Z. C., tirada aos 2 anos de idade, documenta que, conquanto o mixedema já seja evidente, faltam ainda vários dos outros sinais mencionados de hipotiroidismo: em especial compare-se o facies nessa idade com o que apresentava 3 anos mais tarde (Fig 2). As deficiências da psicomotilidade, como é óbvio, também vão se fazendo sentir mais tarde e de modo gradativo, pois a criança não executa os movimentos à medida que transcorre o tempo. Como durante as 10 primeiras semanas de vida os movimentos da criança são sobretudo do segmento cefálico (e dos olhos em particular), é raro que sua ausência fira muito a atenção dos pais. Só nas semanas posteriores, quando também os braços e a porção superior do tronco deixam de executar movimentos espontâneos é que se torna clara a situação de deficiência tiroidiana. Esta deficiência do desenvolvimento motor culmina com a incapacidade de falar, gatinhar e caminhar. Em todos os casos estudados, ela se apresentou de maneira nítida e desde as épocas que deviam marcar o início dos atos normais: assim foi para os movimentos dos membros, para a marcha e para a fala, todos êles surgidos com grande atraso.

O caso I, que é dum cretinismo não tratado durante 5 anos, apresenta sob êsse ponto de vista uma particularidade digna de menção, que é o fato de a criança haver conseguido sentar-se com ajuda aos 8 meses, conforme relato materno. Mesmo pondo-se em dúvida a afirmativa, a fotografia tirada aos 2 anos de idade mostra que pelo menos a criança *se mantem sentada* no colo da mãe. Na realidade trata-se aqui antes da preservação parcial da tonicidade muscular (menos afetada no hipotiroidismo) do que do próprio desenvolvimento motor. De forma alguma cabe a hipótese que o mixedema só se houvesse instalado mais tarde, i.é., não fosse congênito, pois a isso se opõe a total ausência de ossificação post-natal desta paciente.

Da anamnese dos casos II e III se infere bem o atraso psico-motor dessas crianças e a época em que foi notado. O mesmo vale para o caso IV, apesar das informações sumárias fornecidas: os casos típicos de mongolismo são, em

geral, reconhecidos logo ao nascer através dos caracteres morfológicos do facies e crâneo. Isto estabelece uma diferença com o hipotiroidismo, mas, na realidade, nem sempre êstes caracteres são bem marcados. O atraso na fala e no início dos movimentos é comum a ambas as condições. Para a explicação do fato de, no cretinismo, a criança não se apresentar, logo ao nascer, com o aspecto mixedematoso típico e com os expressivos sinais tegumentares da doença, deve-se apelar para a suplência do hormônio materno na vida intra-uterina e, talvez, para a alimentação natural nos primeiros mêses após o nascimento Os fenômenos de insuficiência da tiróide não se fazem sentir logo após a supressão do seu hormônio; êste é um fato que se observa até em adultos sob tratamento com preparados tiroidianos, quando a administração dêstes é interrompida.

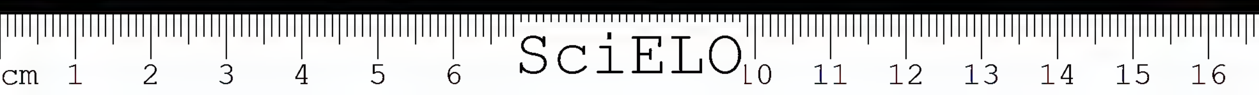
Crescimento estatural: O crescimento estatural dêstes 4 casos está representado nas curvas respectivas da Fig. 19, em paralelo com a curva de crescimento *mínimo* duma criança normal. Da inspeção delas, várias conclusões se tiram. Primeiramente, a deficiência de altura dos 3 casos incontestes de cretinismo é, a qualquer tempo, muito mais acentuada do que a do caso de mongolismo. Em segundo lugar, o progresso de crescimento de A. M. A. foi bem maior dos 3½ a 4 anos, precisamente num período em que o tratamento pela tiróide foi mais intenso. Sob êste ponto de vista os incrementos estaturais de A. M. A. podem ser assim repartidos em função do tratamento:

1) Dos 3 aos 3½ anos, 57 dias de uso do hormônio, crescimento de 1 cm;
2) Dos 3½ aos 4 anos, 95 dias de tratamento, crescimento de 4.7 cm;
3) Dos 4 aos 4½ anos, sem tratamento pela tiróide, crescimento de 1.2 cm.

Note-se que o término do tratamento foi sempre de cêrca de 2 meses antes do fim do período considerado, de modo a se dar tempo a que os efeitos da medicação fossem observados dentro do período em que ministrada. Parece, assim, que a tiróide teve um efeito favorável sôbre o crescimento durante o segundo período, mas não se compreende por que agiu pouco durante o primeiro (intercurrência das infeções?).

Talvez ainda o progresso estatural observado dos 3½ aos 4 anos deva ser imputado em parte à amigdalectomia e adenoidectomia a que a paciente foi submetida no início do semestre considerado.

Das 4 curvas exibidas, a mais ingreme em seu conjunto é a de L. M. P. seguindo-se a de Z. C. e, finalmente, as de A.M.A. e A.O.P. que se equivalem: o grau de inclinação espelha os progressos alcançados. É claro que o melhor resultado obtido inicialmente por Z. C. advém de que êle exprime as primicias do tratamento hormonal, pois esta criança, ao contrário do que ocorria com as outras, nunca tomára preparados de tiróide. Também a melhor resposta de L.M.P. em relação a A.O.P. (ambos casos de cretinismo típico já tratados) deve ser



atribuida em parte à melhor condição social da paciente, o que lhe garante uma alimentação melhor e hábitos mais higiênicos.

Pode-se prever que nenhuma destas crianças atingirá uma estatura normal, pois é improvavel que os incrementos futuros aumentem a ponto de a curva respectiva atingir a curva normal. Quando o cretinismo é tratado desde os primeiros meses, duma maneira constante e acertada, a curva de crescimento se mantem muito próxima da normal: isto não aconteceu em nenhum dos 3 casos. Quanto ao caso de mongolismo, sua situação já é bem mais perto da curva normal; sabe-se, não obstante, que êstes enfermos não atingem em regra uma estatura inteiramente satisfatória.

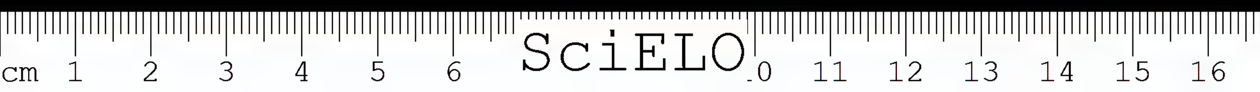
O tratamento do mixedema congênito pela tiróide impede que o crescimento estacione, ou melhor, que se processe num ritmo muito lento; mas si êle se inicia quando já ha marcado déficit estatural, não consegue acelerar o crescimento de modo a normalizar de todo a estatura; daí o quasi paralelismo das curvas em relação à curva normal.

Na verdade, no *início* do tratamento dum nanismo tiroidiano (quando êste inicio é tardio) existe uma *aceleração* do crescimento, maior do que a correspondente à idade cronolwgica do paciente, e maior mesmo do que a correspondente à sua idade estatural (i.é., à que têm as crianças normais de sua estatura). Exemplificando: Z. C. cresceu nos primeiros 6 meses de tratamento cêrca de 7 cm, o que é um incremento muito superior à média duma criança de sua idade (5 anos) durante igual lapso de tempo, e também um pouco maior do que o incremento relativo a 15 meses, que é (no máximo) a idade estatural desta paciente.

Esta aceleração mais acentuada ocorre, porém, como dissemos, só no início do tratamento ou então quando, como no caso III, o tratamento é reiniciado após um periodo longo de interrupção.

Depois, os incrementos diminuem e passam a ser (nas melhores condições) proximamente iguais aos incrementos normais da idade atual. Note-se que, normalmente, dos 3 anos em diante até a pre-puberdade, os incrementos anuais da estatura são praticamente iguais entre si, ou melhor, são só levemente decrescentes (observe-se a curva normal), de sorte que não importa muito afirmar si o crescimento destas crianças com hipotiroidismo *em tratamento* se faz conforme o ritmo de sua idade cronológica ou conforme o de sua estatura atual.

Finalmente, merece ser mencionado que um mixedema congênito não tratado durante 5 anos e 3 meses (caso I) pode crescer cêrca de 23 cm em altura, admitindo-se que esta criança tenha nascido com 50 cm, como o habitual. A altura de 73 cm é, em condições normais, a de uma criança de 15 meses no máximo. Através das informações paternas se apura que o crescimento de Z. C. se deteve de todo aos 2 anos: provavelmente, pois, aqueles 23 cm foram con-



seguidos neste lapso de tempo e o foram, pode-se dizer, por óbra da hipófise sôbre as cartilagens dos ossos longos, já que o caso é duma atireose completa; ou então, à semelhança do que ocorre com os ratos hipofisectomizados aos 21-24 dias, o crescimento longitudinal dos ossos se fez nos primeiros meses de vida e de modo autônomo, i.é., independente do contrôle hipofisário (3) e até mesmo do próprio esbôço das cartilagens epifisárias existentes (4).

Ossificação: O exame *periódico* da ossificação em casos de mixedema e de mongolismo é o melhor meio de distinguir estas duas afeções e permite apreciar, da maneira a mais objetiva, a resposta ao tratamento instituido.

O caso I demonstra de modo evidente que, na ausência duma tiróide funcionante, não ha aparecimento de novos núcleos de ossificação, poïs esta criança, com 5 anos e 3 meses de idade, tem uma idade óssea igual a zero ou, no máximo, a 3 meses de vida post-natal, si se quer levar em conta o ligeiro esbôço do grande osso do carpo. Ao cabo de 1 ano de tratamento pela tiróide, a idade óssea passa a ser de pouco mais de 1 ano, i.é., seu avanço foi igual ou pouco superior ao da idade cronológica: o tratamento portanto reiniciou a ossificação mas ainda não a acelerou, pelo menos de modo notável.

O caso III foi o que melhores resultados apresentou: a idade óssea progrediu de cêrca de 3 anos durante 1½ ano de tratamento. O atraso inicial da ossificação neste caso se deve a que a criança ficára anteriormente 4 anos sem tratamento hormonal; reiniciado êste, a ossificação se acelerou de modo quasi compensador. Deve-se recordar que também foi êste caso o que exibiu maior incremento na altura, ambas as cousas devendo ser atribuidas à regularidade do tratamento e a melhores condições de nutrição da paciente.

Os casos II e IV têm a mesma idade *óssea* inicial, a saber, 2½ anos, mas uma grande diferença na idade cronológica: 6½ e 3 anos, respectivamente. Caso II, após 1½ ano de tratamento regular pela tiróide, realiza progressos equivalentes a um pouco menos de 2 anos de ossificação: aparecimento das epífises dos metacarpianos, das falanges e de algumas falangetas, bem como do núcleo do semi-lunar. Caso IV, durante o mesmo tempo, apresenta epífises em maior número de dedos e, além do semi-lunar, aparecimento do trapézio; portanto, maior progresso que o caso II. Além disso, a idade óssea do caso IV se igualou inteiramente à sua idade cronológica (4½ anos) e isto a despeito de, no último semestre da evolução (durante o qual prosseguiram os progressos da ossificação) haver cessado o uso da tiróide: *êste fato é que fala mais a favor do diagnóstico de mongolismo.*

Um confronto entre a ossificação e o crescimento esbarra com certas dificuldades, quais sejam, o fato de, já em condições normais, o crescimento estatural ser um fenômeno continuo que obedece a um ritmo mais regular, ao passo

que a ossificação (pelo menos avaliada através do aparecimento dos respectivos núcleos) é fenômeno descontínuo, cujos surtos apresentam entre si intervalos diferentes de tempo. A consequência disto é que o aparecimento de um ou dois pontos de ossificação pode determinar um acréscimo grande e abrupto na idade óssea do paciente. Além disso, o tempo normal de aparecimento de alguns pontos de ossificação é sujeito a uma ampla margem de variação, maior às vêzes que a correspondente às oscilações estaturais. Um terceiro elemento que dificulta a comparação projetada é a inversão que se nota no hipotiroidismo, e talvez no mongolismo, da ordem normal de aparecimento de alguns núcleos de ossificação. Por exemplo, A.O.P. e A.M.A. já apresentavam, de início, o osso piramidal, quando ainda não tinham nenhuma epífise dos metacarpianos e das falanges, ao contrário do que se observa comumente. Êste fenômeno já foi assinalado por Vianna Giuria (5) no hipotiroidismo, tratado ou não, e em algumas outras condições. Todos êstes fatos dificultam, portanto, uma comparação exata entre os progressos da idade óssea e os do crescimento estatural, obrigando-nos a um confronto aproximado.

Não obstante, si se quizer ter uma idéia objetiva a êste respeito, será preciso traduzir em *têrmos cronológicos* os dados relativos ao progresso em altura, que são expressos em unidades lineares. Com isto se introduz a noção de idade estatural, que é a idade duma criança normal que tivesse a altura do paciente considerado.

Através do gráfico da Fig. 19 pode-se deduzir a idade estatural de cada caso apresentado, confrontando as curvas respectivas com a curva de crescimento mínimo normal. Assim, por exemplo, A.O.P. tem, no início da observação, a altura duma criança de 2 anos e 10 meses e, ao cabo de 2 anos de observação, a altura duma criança de 4 anos e 3 meses, i.é, houve, durante êsse lapso de tempo, ganho de 1 ano e 5 meses na idade estatural. Em conformidade com o exposto, foi organizada a Tabela I.

TABELA I

CASO	Idade estatural		Ganho total	Tempo de observação	Ganho médio em 12 meses
	inicial	final			
Z. C.	1 a. 3 m.	2 a.	9 m.	9 m.	12 m.
A. O. P.	2 a. 10 m.	4 a. 3 m.	1 a. 5 m.	2 a.	8½m.
L. M. P.	3 a. 10 m.	5 a. 7 m.	1 a. 9 m.	1 a. 6 m.	14 m.
A. M. A.	2 a. 3 m.	3 a. 3 m.	1 a.	1 a. 6 m.	8 m.

Por processo equivalente se aprecia o progresso da idade óssea e, unicamente para que os resultados sejam comparaveis, reduz-se, aqui também, a um

mesmo período de tempo (1 ano) o avanço conseguido, embora se saiba que tanto os progressos da altura, como os da ossificação, não se fazem uniformemente. A Tabela II regista os dados relativos à idade óssea:

Tabela II

CASO	Idade óssea		Ganho total	Tempo de observação	Ganho médio em 12 meses
	Inicial	Final			
Z. C.	3 m.	1 a. 6 m.	1 a. 3 m.	1 a.	15 m.
A. O. P.	2 a. 6 m.	4 a.	1 a. 6 m.	1 a. 6 m.	12 m.
L. M. P.	4 a. 6 m.	7 a. 6 m.	3 a.	1 a. 6 m.	24 m.
A. M. A.	2 a. 6 m.	4 a. 9 m.	2 a. 3 m.	1 a. 5 m.	19 m.

Do exame de cada uma das tabelas e do seu confronto, várias conclusões resultam:

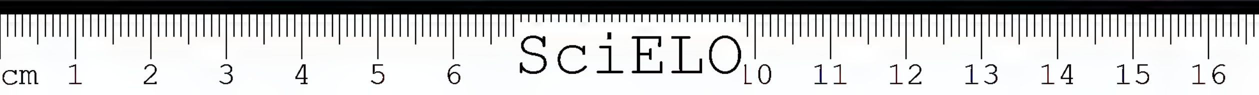
a) O ganho médio em altura foi superior ao normal (i.é. maior do que 12 meses) no caso III. em que a terapêutica foi reiniciada após 4 anos de interrupção; igual ao normal no caso I, em que o tratamento hormonal se instituia pela primeira vez; e inferior ao normal nos outros dois, sendo um pouco mais prejudicado no caso IV, que é o de mongolismo. Objetiva-se aqui, numericamente, os reparos já feitos a propósito da aceleração do crescimento estatural.

b) O *progresso* na idade óssea foi *acelerado* nos casos I, III e IV e realizado em lapso normal de tempo no caso II. Também aqui a aceleração notada nos casos I e III se deve, respectivamente, ao início e ao reinício (após longa pausa) da terapêutica; a aceleração do caso IV, mesmo com uma terapêutica intencionalmente interrompida, demonstra que êste caso deve ser de natureza diversa dos demais e é um argumento a favor do diagnóstico do mongolismo.

c) Em todos os casos os progressos da ossificação foram maiores do que os do crescimento; mas onde esta divergência é mais acentuada é no caso de mongolismo. Acresce (o que é importante) que nos casos de mixedema, apesar dos ganhos alcançados, a idade óssea ainda ficou por baixo da idade *atual* dos pacientes, ao passo que no caso de mongolismo, ambas se igualaram.

Dentição: A condição inicial e os progressos realizados em cada caso, no que concerne à dentição, podem ser assim sumariados:

Caso I com 5 anos e 3 meses tem os 4 inc. cent., os 2 inc. lat. inf. e os 4 1.º pre-mol., o que equivale a mais ou menos 12 a 15 meses de "idade dentária"; após 1 ano de tratamento, todos os restantes dentes deciduais.



Caso II, com 6½ anos, tem todos os dentes deciduais e ainda nenhum permanente; aos 8 anos irrompe o primeiro grande molar que, normalmente, rompe aos 6.

Caso III, com 8½ anos, tem ou teve todos os deciduais e mais os primeiros grandes molares. Aos 10 anos tem os 4 inc. med. dos permanentes, que surgem, em casos normais, aos 7 anos.

Caso IV, com 3 anos de idade, tem todos os deciduais, exceto os dois premolares sup., que irrompem aos 4 anos.

Portanto, o maior atraso inicial, como era de esperar, ocorreu no caso I. Nos casos II e III sabe-se, através da anamnese, que a dentição se iniciou também tarde, após 4 e 1 anos de idade, respectivamente. Por ocasião da matrícula no serviço, ainda havia atraso de alguns anos, sendo êste mais acentuado no caso II. O tratamento melhorou bastante, mas não chegou ainda a normalizar completamente a dentição destes pacientes. Por fim, o caso IV é o que menor atraso inicial apresenta e progrediu de modo satisfatório.

Vê-se, pois, que existe uma certa concordância com o que se passa com a ossificação esquelética, não só no que toca aos atrasos iniciais e aos progressos de cada caso, como no que diz respeito ao confronto entre êles e a influência do tratamento.

Psico-motilidade e inteligência: No cretinismo, o desenvolvimento psicomotor inclusive a fala, não se processa enquanto não se institue a terapêutica substitutiva: é o que exemplifica a paciente do caso I que, aos 5 anos de idade somente consegue *manter-se* sentada. Nos casos II e III, também, o sentar-se, o suster-se de pé, e sobretudo o caminhar e o falar, só começam depois dos 2 anos de idade, época do início do tratamento.

No caso IV os primeiros passos foram dados aos 2½ anos e as primeiras palavras pronunciadas aos 3 anos. É precisamente no terreno da psico-motilidade e da inteligência que o mongolismo apresenta maior cópia de sintomas comuns ao hipotiroidismo, a gravidade dêles dependendo do grau de deficiência mental. A análise de tais sintomas não oferece, pois, muita margem para distinção entre ambas as afeções, mas a resposta ao tratamento pode, contudo, ajudar no diagnóstico diferencial. No que toca ao desenvolvimento motor, em especial, a ação favorável do tratamento pela tiróide em casos de mixedema é visível. Assim foi no caso I que, tendo, de início, apenas alguns movimentos desordenados dos membros, póde começar a gatinhar e a caminhar com ajuda respectivamente aos 2 e aos 9 meses de tratamento.

Os casos II e III já se apresentavam, por ocasião da matrícula, com o desenvolvimento motor mais ou menos normalizado e isto por obra do tratamento anterior. Os progressos observados nestes casos foram, pois, só referentes à fala e êles foram, aliás, discretos, conquanto inegáveis.

O tratamento anterior pela tiróide no caso IV parece ter dado resultados parciais, segundo as informações colhidas. Na evolução ulterior, a influência sôbre a fala foi pequena: mas também nos casos de hipotiroidismo, a melhoria da fala juntamente com a do nivel mental é o que mais dificilmente se consegue, de sorte que, neste particular, a evolução dos casos não nos auxilia muito a distinguir o mongolismo do hipotiroidismo.

É irrecusável que a administração de tiróide no mongolismo tem um efeito benéfico sôbre a *vivacidade* psiquica e motora, corrigindo a sonolência e a apatia: isto póde ser observado por ocasião da supressão do hormônio no caso IV; mas uma ação pronunciada e direta sôbre o desenvolvimento motor propriamente dito parece que só se observa nos genuinos casos de hipotiroidismo, como os 3 primeiros.

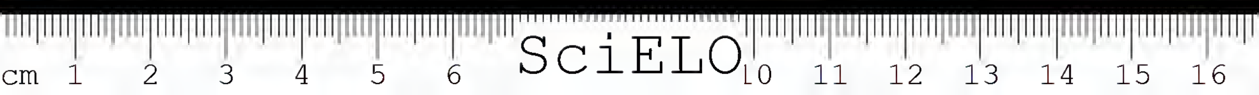
O baixo nivel intelectual nas duas condições é o fenômeno mais resistente ao tratamento: todavia, no mongolismo êle o é ainda mais do que no hipotiroidismo.

Mixedema, alterações tegumentares e outros sinais: Com a supressão da terapêutica hormonal, êstes sinais reaparem, em casos de hipotiroidismo, dentro de 1, 2 ou, no máximo, 3 meses. A supressão de tiróide durante 8 meses no caso IV determinou certo grau de secura da pele, peiora da prisão de ventre, mas não determinou aparecimento de mixedema.

Por outro lado deve-se notar que o facies não se alterou, mesmo durante o periodo de tratamento: a criança manteve sempre uma expressão algo estúpida, com a boca entreaberta.

COMENTÁRIOS

1) *Diferenciação diagnóstica através da evolução*: O mongolismo e o hipotiroidismo se distinguem facilmente um do outro quando, em determinado caso, os caracteres próprios a cada um estão presentes, com exclusão dos outros. Means (6) organizou, a êste respeito, um quadro de diagnóstico diferencial. Basta aqui lembrar que o facies *mongólico* (olhos oblíquos e epicanthus) notado já desde o nascimento e o não aparecimento ulterior de mixedema são as caracteristicas próprias da primeira daquelas afeções, enquanto o mixedema, a sequidão da pele e um considerável atraso da ossificação e dentição são apanágio do hipotiroidismo. Assim é, porém, nos casos extremos. Mas como ambas as afeções têm de comum a deficiência mental, o atraso no inicio da fala e no desenvolvimento psicomotor e como, por outro lado, casos ha de mongolismo e de hipotiroidismo em que aqueles sintomas distintivos se acham atenuados, para só sobressairem os que são comuns a um e a outro, compreende-se que dificil se torna a diferenciação entre ambos.



Com efeito, de forma alguma é essencial para a identificação da idiotia mongólica, a obliquidade dos olhos e o epicanthus (7). Os caracteres morfológicos do crâneo (testa alta, bossas frontais salientes, cavidade orbitária pequena distância inter-orbitária menor que o normal, face chata, etc.) são dados de maior importância, mas sua apreciação pode às vêzes difícil, e é a idiotia, com sua repercussão sôbre o físico e o psíquico, que domina então o quadro sintomático.

No caso IV observado, os elementos que, de início, falavam a favor do mongolismo eram o facies e a conformação craneana (não, porém, dum modo persuasivo), a presença duma cardiopatia congênita (bastante frequente nesta afeção), a pouca resistência às infeções e o nivel de colesterol sanguíneo dentro de limites normais. Por outro lado havia, ainda inicialmente, um atráso, embora leve, na ossificação e no crescimento (o qual está também, de regra, algo retardado no mongolismo) e a declaração materna de que um tratamento anterior com tiroidina dera "algum resultado". Êstes dados faziam pensar em hipotiroidismo frusto.

A evolução demonstrou, porém, que a ossificação se normalizou dentro de pouco mais de 1 ano, que a administração de preparados tiroidianos não chegou a modificar substancialmente o aspecto da paciente, em particular o seu facies, bem como não melhorou, de modo claro, a fala e a compreensão e, sobretudo, que a supressão posterior do hormônio durante 8 meses não retardou o progresso na ossificação (*). Êstes fatos, si confrontados com o que se passou nos outros casos observados (sobretudo o caso I), mostram que o retardo da psicomotilidade e, principalmente, a deficiência mental da pequena paciente não podem ser atribuidos a um hipotiroidismo, pelo menos de modo exclusivo, e levam porisso junto com os dados preliminares já apontados, ao diagnóstico de mongolismo.

Entretanto, é inegável que a administração de tiróide teve um efeito favorável: a) sôbre o crescimento estatural; b) sôbre o temperamento e a conduta, que se tornaram mais vivazes; c) sôbre a atonia intestinal, pois as três cousas melhoraram durante o período de tratamento, para peiorarem durante o da supressão do mesmo. Isto nos leva a crer que, ou neste caso havia, concomitantemente, uma deficiência leve da tiróide, que só por aqueles três sintomas se denunciava, ou então que, também no mongolismo (como acontece em alguns

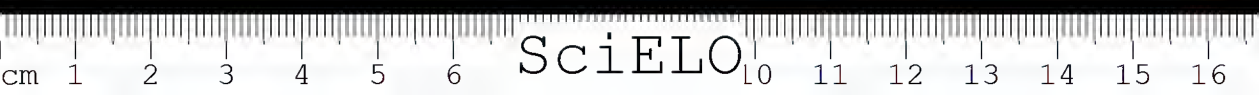
---

(*) A propósito do critério a adotar-se na apreciação da influência do tratamento sôbre a ossificação, nós nos atemos às seguintes regras: si a ossificação está muito atrasada (3 anos ou mais) e si com o tratamento recebe novo impulso, não temos dúvida em reconhecer uma relação de causa a efeito, ainda quando o tempo gasto nesse avanço seja igual ao dum caso normal. Si, porém, o atraso inicial fôr leve, a melhoria da idade óssea só poderá ser imputada ao tratamento, si ela se operar aceleradamente, i. é., si, ao fim do periodo considerado, ela se houver igualado de todo à idade crono'ógica (portanto, si o lapso de tempo dispendido fôr menor do que o dum caso normal) ou, melhor ainda, si o progresso observado se detiver novamente com a interrupção do tratamento.

estados fora do hipotiroidismo) um suprimento extra de tireoglobulina pode corrigir (farmacologicamente?) algumas de suas manifestações.

2) *Patogenia do mongolismo*: Para esclarecimento da patogenia e etiologia do mongolismo, diversas teorias têm sido levantadas, quasi todas baseadas nos resultados da pesquisa anátomo-patológica. Esta se endereçou, a princípio, para o exame do encéfalo, que mostrou as mais variadas alterações: circunvoluções pouco nítidas, estrutura do tipo embrionário, menor desenvolvimento das fibras tangenciais, nódulos de substância cinzenta no cerebelo, etc. (8). Ultimamente, Benda tem realizado estudos sistematizados sôbre o assunto, focalizando, de preferência, as alterações encontradas na glândula tiróide (1), na hipófise (9) e no crâneo (10). Em resumo, os achados principais foram os seguintes: tiróide não aumentada de volume, mas com sinais histológicos de hiperatividade em alguns pontos e de involução em outros, ambas as cousas devendo ter ocorrido antes do nascimento, pois a maior parte dos casos autopsiados era de crianças de alguns dias ou meses de vida, o que parece dar razão a Clark (11), que considerava o mongolismo "um hipertiroidismo fetal que cessa no nascimento". Na hipófise foi observado um aumento no número das células eosinófilas e uma deficiência no das basófilas e cromófobas; como esta glândula não está aumentada e como não existem no mongolismo sinais de hiperfunção das eosinófilas, a deficiência das duas outras espécies celulares parece ser a alteração principal, o que condiciona um "tipo particular de distúrbio pituitário". Finalmente, as desordens observadas no crâneo foram: proliferação deficiente e ossificação defeituosa dos ossos da base (etmóide, esfenóide e escama do occipital) que são ossos cartilaginosos; porisso a base não se desenvolve e, como os ossos membranosos (temporal, parietal) não são acometidos pelo mesmo retardamento, o comprimento do crâneo permanece menor do que o habitual, o que determina a braquicefalia dos mongolóides. Estas alterações, vistas nas sincondroses esfeno-etmoidal e esfeno-occipital, também são observáveis, em grau variável, nas articulações dos membros, o que é causa dum crescimento retardado e realizado por etapas. A diferença com a condrodisplasia reside em que, nesta, a cartilagem é prematuramente absorvida e substituida por tecido ósseo; no hipotiroidismo, os centros de ossificação não comparecem e, porisso, os espaços cartilaginosos permanecem muito abertos. No mongolismo não ha nem uma cousa nem outra: as cartilagens se conservam, mas proliferam lentamente; os núcleos de ossificação aparecem, mas crescem devagar e de modo irregular. Além disso, notam-se diferenças histológicas quanto à estrutura epifisária, entre o cretinismo e o mongolismo.

Si estas alterações da osteogenese (sobretudo craneana) são porém a consequência duma mutação no plasma germinal, como pensam uns, ou si são



devidas a desordens endócrinas do organismo materno, como opinam outros, é questão até hoje não resolvida

Depois de ponderar os fatos observados, muitos dos quais parecem entre si contraditórios, Benda limita-se a uma conclusão de ordem geral, a saber, que "a deficiência mongolóide parece ser dependente da ausência ou da deficiência congênita daqueles agentes que, duma fonte hipofisária ou extra-hipofisária, estimulam a diferenciação e o crescimento".

RESUMO

Estuda-se a evolução de 3 casos típicos de cretinismo e de um quarto de mongolismo, o qual se prestava à confusão com o quadro dum hipotiroidismo parcial.

A análise retrospectiva dos casos e a observação do decurso posterior dos mesmos, revelam alguns pontos interessantes: a exteriorização *plena* do mixedema congênito só se dá alguns ou vários meses após nascimento, o que é atribuível ao efeito residual (acumulativo) do hormônio materno durante a gestação. Instalado o quadro integral do hipotiroidismo congênito, o doente pode sobreviver vários anos sem medicação substitutiva, mas nenhum dos sintomas peculiares regride até que esta seja instituida: em particular, nenhum novo núcleo de ossificação aparece, enquanto o paciente não é tratado. O crescimento estatural, entretanto, continua por 1 ou 2 anos no máximo, o que se deve à ação ou da hipófise ou das substâncias indutoras presentes nos tecidos em desenvolvimento. O tratamento hormonal age favoravelmente sôbre o crescimento, a ossificação e a dentição: corrige completamente o mixedema: normaliza o desenvolvimento motor, e tem ação menos favorável sôbre a inteligência.

Um confronto entre ossificação e crescimento demonstra que aquela é muito mais dócil ao tratamento do que êste. Esta divergência parece maior no mongolismo, embora, em valores absulutos, tanto uma como o outro estejam, nesta afeção, muito menos comprometidos do que no hipotiroidismo.

Propõem-se um critério objetivo para comparar os progressos da ossificação com os do crescimento e bem assim as regras para apreciar a influência do tratamento sôbre aquela.

O estudo da evolução do cretinismo e do mongolismo mostra diferenças entre ambos, sobretudo quanto aos efeitos do tratamento pela tiróide, que são decisivos no primeiro e apenas parciais no segundo.

Uma súmula dos atuais conhecimentos potogenéticos no mongolismo sugere que esta afeção seja ocasionada por uma deficiência pre-natal daqueles fatores, endócrinos ou extra-endócrinos, que estimulam o desenvolvimento ósseo, afetando de modo especial as sincondroses da base do crâneo.

ABSTRACT

Three typical cases of cretinism and one of mongolian idiocy with a follow-up of from one to two years are reported. One of the hypothyroid cases was a girl, five years old, that never had been treated, exhibiting therefore a full picture of congenital myxedema. The other two cases had previously received thyroid therapy. The mongolian case appeared, at just sight, to be a mild case of hypothyroidism; but the lack of effective response to the hormonal treatment convinced us that we were dealing with the condition known as mongolism. On withdrawal of thyroid tablets it was indeed observed an aggravation of the intestinal stasis and a moderate decrease in growth rate, but ossification proceeded as formerly. This is a way to distinguish the two conditions in borderline cases.

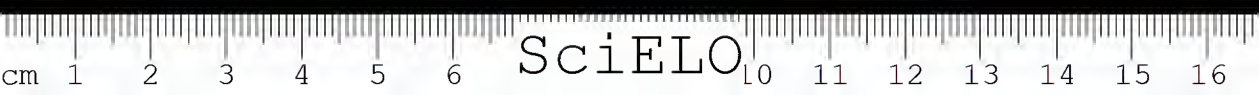
The study of the past story and the examination of previous photographs of these children led us to some interesting conclusions: the full picture of congenital myxedema does not appear at birth but only after several months and sometimes only one year later. The fact may be explained by a residual effect of the maternal hormone supplied to the fetus during pregnancy or perhaps through the mother's milk in the post-natal life.

Cretins may survive several years without treatment, but with an increasing aggravation of myxedema, impairment of motility and mental deficiency. Untreated cases exhibit some growth in length in the first two years of life: this is to be ascribed to the anterior pituitary or to growth promoting substances present within the body cells. Neither however is able to promote the appearence of new ossification centers.

Under thyroid therapy the condition is completely changed: myxedema disappears, growth receives a new impulse, ossification is resumed, motility is placed under control and mental level improves although at a much lesser extent than the other symptoms.

A precedure is proposed to make a suitable comparison between the ossification and growth rates. Some rules are also established in order to appreciate the real influence of treatment on the ossification process. Such a procedure shows that under hormonal treatment, ossification is much more improved than statural growth. This difference is still more pronounced in mongolism than in hypothyroidism, although in the former both ossification and growth are far less affected than in the latter.

Our present knowledge of the etiology and pathogenesis of mongolian idiocy is confined to the recognition that this affection is caused by a *pre-natal deficiency of those factors*, endocrine or non-endocrine in nature, *which stimulate osseous development*, affecting in epecial manner the synchondrosis of the base of the skull.



BIBLIOGRAFIA

1. *Benda, C. E.* — Arch. Neurol. e Psychiat. **41**:243.1939.
2. *Lobo, J. I.* — Arq. Cir. Clin. Exper. **6**:1142.1942.
3. *Collip, J. B.; Selye, H. & Thomson, D. L.* — Nature **131**:56.1933.
4. *Selye, H.* — J. Anat. **68**(3):289.1934.
5. *Giuria, C. A. Vianna* — Arch. Clin. e Inst. Endocrinologia (Montevideo) **1**(1) 111.1937-40.
6. *Means, J. H.* — The thyroid and its diseases. Philadelphia, J. B. Lippincot Company 1937
7. *Benda, C. E.* — Arch. Neurol. e Psychiat. **41**:83.1939.
8. *Weigandt, W.* — Der jugendliche Schwachsinn. Stuttgart, Ferdinand Enke Verlag, 1936.
9. *Benda, C. E.* — Arch. Neurol. e Psychiat. **42**:1.1939.
10. *Benda, C. E.* — Amer. J. Pathology **16**:71.1940.
11. *Clark, R. M.* — citado em (10).

(Trabalho da Seção de Endocrinologia do Instituto Butantan. Entregue para publicação em novembro de 1942 e dado à publicidade em fevereiro de 1943).



Fig. 1
Z. C. aos 2 anos de idade.



Fig. 2
Z. C. aos 5 anos e 3 meses, por ocasião da matrícula no serviço.



Fig. 3
Z. C. 1 mês após o início do tratamento.



Fig. 4
Z. C. 9 meses após o início do tratamento.

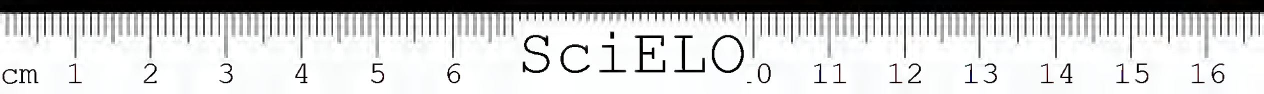

SciELO



Fig. 5

Punho e mão de Z. C. aos 5 anos e 3 meses de idade: ossificação correspondente no maximo a 3 meses de idade.



Fig. 6

Punho e mão de Z. C. depois de 3 meses de tratamento; franca evidênciação do *os magnum.*



Fig. 7

Punho e mão de Z. C. aos 6 anos e 3 meses. Idade ossea: 1 para 1½ ano.



Fig. 8

A esquerda, A.O.P. aos 3 anos de idade, ao lado de sua irmã, normal, com 1 ano. Notar a diferença no olhar, na expressão fisionômica e na orientação da cabeça. As alturas quasi se equivalem.

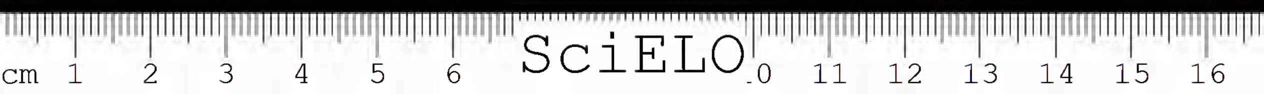

SciELO



Fig. 9

A. O. P., com 6½ anos, ao ser matriculado no [illegible]iço, já sob influência dum tratamento anterior. A genitália é pouco desenvolvida.



Fig. 10

A. O. P., com 8½ anos, ao lado da mesma irmã mais moça com que foi fotografado aos 3 anos.



Fig. 11

Punho e mão de A. O. P. aos 6½ anos. Idade óssea: 2½ anos.



Fig. 12

Punho e mão de A. O. P. aos 8 anos. Apareceram quasi todas as epifises metacarpianas e digitais e mais o semi-lunar. Idade óssea: 4 anos.

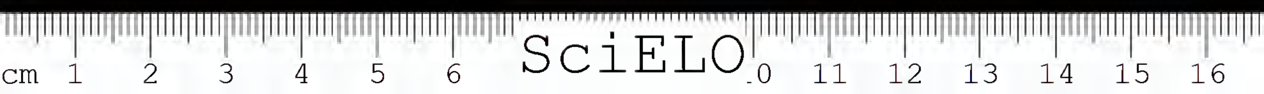

cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
11 12 13 14 15 16



Fig. 13

Mãos da paciente L. M. P., características de hipotiroidismo.



Fig. 14

Punho e mão de L.M.P., $8\frac{1}{2}$ anos de idade cronológica e $4\frac{1}{2}$ de idade óssea.



Fig. 15

Punho e mão de L.M.P. aos 10 anos de idade. Idade ossea: $7\frac{1}{2}$ anos.

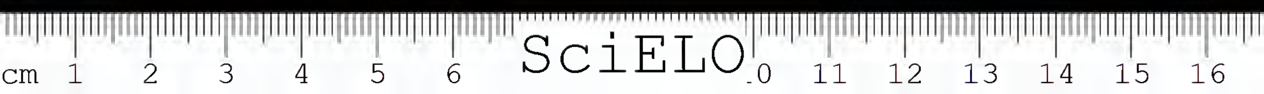

cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16



Fig. 16

Punho e mão de A.M.A. aos 3 anos de idade. Leve atraso da ossificação (cerca de 6 meses) revelado pela ausência das epífises metacarpianas e digitais.



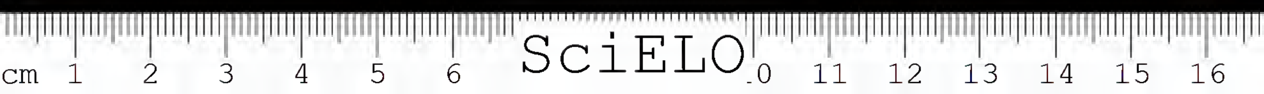
Fig. 17

Punho e mão de A.M.A. aos 4 anos e 5 meses. Presença das epífises metacarpianas e digitais, do semi-lunar e do trapézio. Desenvolvimento dos núcleos pre-existentes. Idade óssea: entre 4½ e 5 anos.



Fig. 18

A.M.A. aos 4½ anos de idade, após 1 ano da amigdalectomia e adenoidectomia, e 8 meses de suspensão do uso de preparados tiroidianos. Observe-se o facies; não ha, porém, mixedema.


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
11 12 13 14 15 16

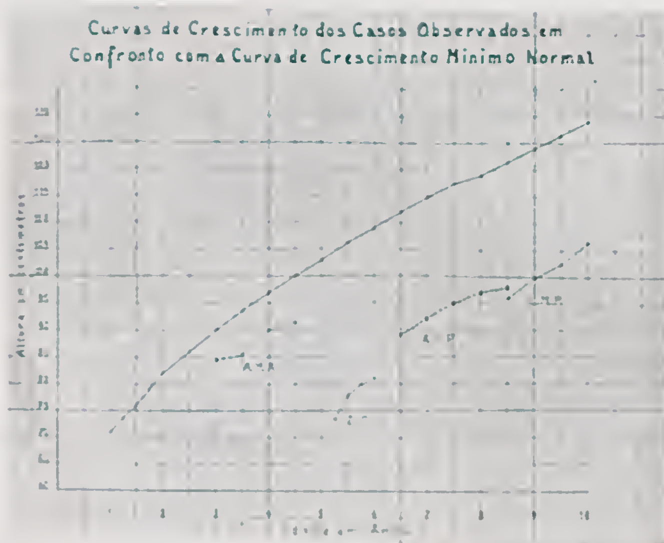
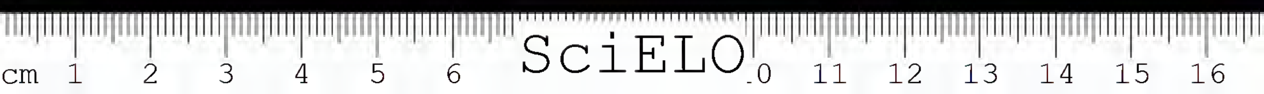

Curvas de Crescimento dos Casos Observados em
Confronto com a Curva de Crescimento Minimo Normal

Fig. 10


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16

616.63

NOVAS OBSERVAÇÕES SÔBRE O DIABETE INSÍPIDO

POR

J. I. LOBO & LUCIANO DÉCOURT

Em trabalho anterior (1) fizemos alguns comentários acêrca do tratamento do diabete insípido. No presente trabalho vimos trazer o resultado de novas observações relativas àquela entidade mórbida. Desde então até hoje apresentaram-se em nosso serviço três novos casos, todos êles de diabete insípido idiopático, perfazendo, pois, com os dois anteriores, o total de 5 casos em tratamento. Preliminarmente vejamos, em resumo, as observações dos três novos casos acima citados.

CASO I — J. D., fem., 19 a., branca. brasil., solt.

Queixa: Paliúria e polidipsia ha 4 ½ anos; ingere, em média, 5 a 6 litros de água e urina 7 a 8 litros nas 24 horas. Não relaciona o aparecimento desses sintomas a qualquer causa. Nunca fez tratamento algum.

H. sexual: menarca aos 13 ½ anos; após 1 ano de menstruações regulares instalou-se uma amenorréia que persiste até hoje e que coincidiu com o aparecimento da doença.

Desenvolvimento somático e psíquico: normais.

Antecedentes mórbidos pessoais: sem importância.

Não conta, entre os parentes, qualquer caso semelhante.

Apetite conservado. Alimentação variada.

Peso: 48.450.

Alt.: 151.4.

Tegumento cutâneo: quente e úmido. Efélides no rosto. Pêlos normalmente presentes nas axilas e pubis. Panículo adiposo regularmente desenvolvido e com distribuição normal; acúmulo nas mamas.

Dentes mal conservados com numerosas falhas. Amígdalas ligeiramente hipertrofiadas.

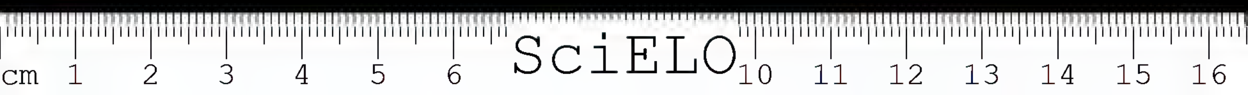
Tireóide: palpável, não dolorosa e de volume e consistência normais.

Mamas: bastante desenvolvidas em virtude de acúmulo de gordura.

Ap. circulatório: sôpro sistólico leve em toda a área.

Pulso: 72 T. art. = 116 × 86.

Nada de particular nos demais aparelhos.



Ex. ginecológico: genitália externa: normal.

Genitália interna (toque retal): útero em anteverso-flexão exagerada e de volume ligeiramente diminuido. Anexos não palpáveis.

Exame radiológico do crâneo: sela túrcica um tanto diminuida.

Reação de W e K: negativas.

Volume urinário nas 24 horas: 8 litros. Densidade: 1005.

CASO II — J. T., masc., 26 a., branco, brasil., solt., condutor.

Queixa: Poliúria e polidipsia intensas (10 a 15 l.). Doente há cêrca de 1 ½ anos. De um modo abrupto começou a sentir necessidade de beber água a todo instante, bem como de urinar. À noite, urina 3 a 4 vêzes e ingere água outras tantas vêzes. Tentando permanecer sem ingerir água sente todo o corpo sêco (sic), principalmente a garganta. Nunca se submeteu a qualquer tratamento. Apresenta bôa disposição para o trabalho (em média trabalha 10 a 11 horas diariamente).

H. sexual: nada de anormal.

Desenvolvimento somático e psíquico: normais.

Antecedentes mórbidos pessoais: sem importância. Entre os parentes não ha caso semelhante ao seu.

Apetite bom. Alimenta-se suficiente e variadamente.

Peso: 56.350.

Alt.: 164.5.

Tegumento cutâneo: quente e úmido. Distribuição pilosa normal. Paniculo adiposo: distribuição e desenvolvimento normais.

Boca: dentes em máu estado e com numerosas falhas.

Tireóide: palpável e não aumentada.

Ap. circulatório: escuta normal. Pulso 66. T. art. = 125 × 78.

Nada de anormal nos demais aparelhos.

Genitália externa normalmente desenvolvida.

Reação de W. e K.: negativas.

Urina: vol. nas 24 horas: 10 litros. Densidade: 1005.

CASO III — L. S. fem. 13 a., branca, bras., solt..

Queixa: Poliúria e polidipsia há 8 anos. Cefaléias de quando em vez. Refere que a doença teve início repentino, não sabendo a que atribui-la. A diurese era, inicialmente, maior — 10 a 12 litros —, diminuindo depois de modo a ser, no momento, mais ou menos 8 litros.

H. sexual: menarca há pouco mais de 1 ano e posteriormente menstruada apenas 2 vêzes sendo a última precisamente há 1 ano. Corrimento branco.

Desenvolvimento somático e psíquico: normais.

Antecedentes mórbidos pessoais: Parotidite epidêmica há 1 ano. Sofreu amigdalectomia. Entre os parentes não existem casos semelhantes, sendo a mãe portadora de um bócio simples. Apetite conservado. Alimentação variada.

Peso: 42.900.

Alt.: 145.7.

Tegumento cutâneo: quente e úmido. Pêlos pubianos presentes com desenvolvimento relativo à idade. Pêlos axilares incipientes. Panículo adiposo regularmente desenvolvido e distribuido.

Boca: Dentes mal conservados.
Mamas: Desenvolvimento de acôrdo com a idade; desde os 12 anos.
Ap. circulatório: nada de particular. Pulso 78. T. art.: 120 × 70.
Reação de W.: negativa.
Urina: vol. nas 24 horas: 8-9 litros. Densidade: 1004.

Essas observações não requerem maiores comentários, a não ser na parte referente aos distúrbios menstruais. É interessante assinalarmos que os três casos de diabete insípido em mulheres revelam perturbações menstruais. No caso C. C., referido em trabalho anterior, existiam períodos de amenorréia que duravam 3 a 6 meses, sendo que essas anormalidades datavam de 10 anos. Nos dois casos presentes, caso I (J. D.) e o caso III (L. S.) também constatámos irregularidades menstruais; no caso I é digno de nota o fato de a amenorréia ter-se instalado ao mesmo tempo que o início da doença e ter perdurado até o presente. No caso III, a paciente foi menstruada somente duas vêzes após a menarca, sendo que a última menstruação sobreveio precisamente há 1 ano. Se bem que essas perturbações menstruais sejam extraordinariamente frequentes, procurámos apenas salientar o fato da sua existência em todos os três casos de diabete insípido em mulheres, deixando para o futuro a sua explicação; tratar-se-ia de simples coincidência ou até que ponto o distúrbio diabético poderia influir sôbre o ciclo menstrual?

Em vista dos magníficos resultados obtidos, nos dois casos do trabalho anterior, com o emprêgo do pó de hipófise posterior bovina, em inalações, essa substância foi imediatamente empregada nos três presentes casos. Confirmando a já conhecida eficiência dessa terapêutica houve, desde o início, acentuada redução da poliúria e de outros sintomas, como se pode verificar pelo esquema abaixo:

	Antes do tratamento		Tratamento instituído	Em tratamento	
	Diurese	Densidade		Diurese	Densidade
Caso I	8 litros nas 24 horas	1005	2 papeis ao dia, de pó lobo post. de hypófises bovinas (20 mg cada)	1.5 litros nas 24 horas	1021
Caso II ...	15 litros nas 24 horas	1005	"	4.5 litros nas 24 horas	1009
Caso III ..	9 litros nas 24 horas	1004	"	1.5 litros nas 24 horas	1018

A normalização da diurese foi acompanhada de sensação de bem estar e do desaparecimento da polidipsia, como era de se esperar, pois, esta é secun-

dária, sendo a poliúria o fenômeno primário. Os pacientes que, em geral, não conseguiam dormir a noite toda, forçados a acordarem para urinar e ingerir água, passavam a não urinar siquer uma vez durante a noite, o que muito contribuia para a euforia apresentada durante o tratamento.

Na observação dêsses pacientes (os 3 presentes e os 2 anterior) tivemos ocasião de observar alguns itens de particular importância e que veremos a seguir:

1. *Resistência ao tratamento* — No caso 2 (C. C.) do trabalho anterior, o uso de 3 papeis diários, de 16 mg cada, de hipófise posterior bovina, mantinha a excreção urinária, durante as 24 horas, mais ou menos entre 2 a 3 litros e a paciente livre de sintomas desagradáveis. Com o uso continuado dessa medicação notou-se, após alguns meses, que a diurese começava a elevar-se, como pode ser verificado no esquema anexo:

Tratamento	Datas	Diurese nas 24 h.
3 papeis de pó de hipófise diários ..	16.6.941 16.9.941 24.2.942	2 a 3 litros 5 a 6 " 6 "
4 papeis	21.9.942	5.5 litros

Constata-se, assim, que no período de 8 meses a diurese aumentou de 2 a 3 litros para 6 litros, com o emprêgo de um mesmo número de papeis de pó de lobo posterior.

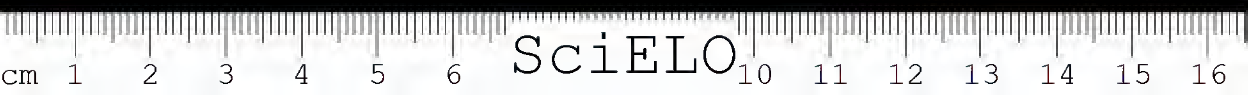
Se bem que em certas ocasiões a paciente se apresentasse resfriada, podendo, portanto, o aumento da diurese, nessas condições, correr por conta de uma dificuldade na absorção do pó pela mucosa nasal, em outras êsse fator não pôude ser invocado.

Rutherford e Griffith (2) verificaram a existência, no sôro de um paciente com diabete insípido, de uma substância que inibia a ação antidiurética dos extratos de lobo posterior de hipófise. Tratava-se de um caso de diabete insípido transitório, sendo que em 2 casos de diabete insípido crônico essa substância não foi encontrada no sôro dos pacientes. No caso presente pudemos verificar uma resistência ao tratamento, aparecendo após algum tempo (10 meses), e que não foi ainda convenientemente explicada, estando, todavia, sendo feitos estudos experimentais com o sôro dessa paciente em comparação com sôro de indivíduos normais, cujos resultados serão publicados mais tarde.

Procurando ainda verificar se essa resistência não estaria ligada a um distúrbio da absorção nasal, fizemos injeções de Pitressin Parke Davis (duas ao dia), que, apesar de serem seguidas de reações desagradáveis, não determinaram redução na quantidade de urina eliminada nas 24 horas.

2. *Tanato de pitressina* — Os efeitos desagradáveis das injeções de Pitressin para tratamento do diabete insípido são vários e bem conhecidos. Assim, as reações locais, as cefaléias, cólicas intestinais, palidez, etc., ao lado de seu efeito fugaz, durando apenas poucas horas e exigindo o emprêgo de várias (3 a 4) injeções diárias para contrôle dos sintomas, tornam o tratamento difícil de ser mantido. Greene e January (3) procuraram afastar a maioria dêsses inconvenientes com o emprêgo do tanato de pitressina, em óleo, que, segundo aqueles autores, não apresentaria as desvantagens do Pitressin e teria ação prolongada, perdurando seus efeitos pelo espaço de 30 a 82 horas. As observações de Greene e January foram, posteriormente, corroboradas por Stephens (4) que, com uma única injeção dêsse preparado, obteve efeito antidiurético pelo espaço de 24 a 96 horas, e por Thorn e Stein (5) que, em três pacientes, com uma só injeção, controlaram a poliúria e polidipsia, por um período de 24 a 48 horas. Êsses autores observaram ainda que a administração continuada de quantidades excessivas de tanato de pitressina em óleo provocava o aparecimento de sinais de intoxicação aquosa. Êste último fato também foi verificado por Blotner (6), que constatou ser a injeção diária seguida de efeito antidiurético acumulativo, diminuindo o volume urinário abaixo da média normal. Observou, ainda, em seus sete casos, a duração do efeito antidiurético, que variou de 48 a 60 horas; notou, também, aumento na salivação e melhora do apetite e da digestão. Não houve reações secundárias desagradáveis, tais como irritação local, palidez e cólicas intestinais. Em nosso trabalho anterior já tinhamos pensado em empregar essa substância, mas, dadas as dificuldades da obtenção do tanato de pitressina original de Parke Davis, foi o mesmo preparado na Seção de Endocrinologia do Instituto Butantan, a partir do "Pitressin" por precipitação com ácido tânico. O precipitado sêco em acetona era suspenso em óleo de sésamo. Nessas condições, como então assinalámos, por partir-se de pequena quantidade, não era possível obter-se uma suspensão ativa e os resultados foram insatisfatórios.

Posteriormente, conseguimos obter algumas empolas do tanato de Pitressin de Parke Davis. Dado o pequeno número de empolas disponível só foi possível seu emprêgo, por pouco tempo, em apenas 2 casos (J. D. e C. C.). Os resultados podem ser apreciados no esquema abaixo:



Caso I — J. D.

Terapêutica	Diurese nas 24 hs.	Densidade	Observação
Sem tratamento	8-9 litros	1005	——
Injeção de 1 emp. de tanato de Pitressina em 24-8-42	24 a 25 = 1 litro 25 a 26 = 1 litro 26 a 27 = 2 litros 27 a 28 = 5.5 "	— 1022 — 1007	passa bem " " " " polidipsia noturna, boca sêca
Injeção de 1 emp. de t. P. P. D. em 28-8-42	28 a 29 = 1 litro 29 a 30 = 2 litros 30 a 31 = 9 "	1026 — 1003	passa bem " " mal estar

Paciente C. C. (Caso II do trabalho anterior)

Terapêutica	Diurese nas 24 hs.	Densidade
Sem tratamento	± 17 litros	1001
3-9-942 .... 1 injeção de tatano de Pitres. Parke Davis	3 a 4 = 3 litros 4 a 5 = 5 " 5 a 6 = 13 " 6 a 7 = 16 "	1020 — 1005 1002

Tivemos, assim, a oportunidade de, provavelmente, pela primeira vêz, entre nós, observar os resultados do tratamento do diabete insípido com o tanato de Pitressina. Os resultados obtidos concordam, *in totum*, com os observados pelos autores já citados. Não houve, a não ser uma única vez, reação local e os outros inconvenientes (palidez, cólicas intestinais, etc.) do Pitressin foram perfeitamente afastados com o emprêgo do tanato. Entretanto, a maior vantagem dêste tratamento reside no fato de se poder controlar todos os sintomas do diabete insípido com injeções feitas a longos intervalos.

A duração do efeito antidiurético de uma única injeção variou em nossos casos de 48 a 72 horas. Em relação â densidade urinária, sua ação é notável: em um dos casos (C. C.) a densidade, que era antes do tratamento 1001, subiu para 1020. Com o tanato de Pitressina consegue-se, pois, manter normais a diurese e ingestão de água, em pacientes com diabete insípido, de modo tão sa-

tisfatório e simples como talvez não se obtenha com nenhum outro processo terapêutico.

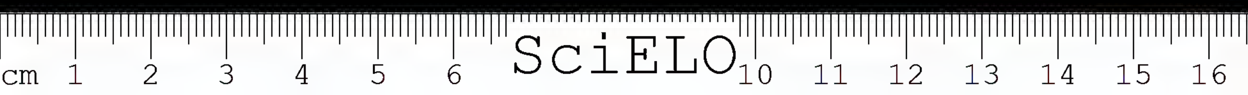
3. *Hipófises humanas* — Tendo sido sempre por nós empregado o pó feito a partir de hipófises bovinas, tentámos comparar o efeito antidiurético de outras hipófises com o das acima citadas. Experimentalmente, Ananias Porto (7) já constatou o notável efeito antidiurético de hipófises humanas. Está claro que tivemos intúito puramente especulativo, pois, essas hipófises nunca poderiam constituir fonte fácil e abundante para preparo do pó. O efeito antidiurético foi ligeiramente inferior ao da hipófise bovina; no paciente W. N. — Caso I do nosso trabalho anterior — em que foi empregado, na dose de 3 papeis diários, a diurese, nas 24 horas, foi de 1 litro. Idêntico resultado obtinha-se, nesse paciente, com o emprêgo diário de 2 ou mesmo 1½ papeis de pó de hipófise bovinas. Com o uso de apenas 2 papeis de pó de hipófises humanas o paciente sentia muita sêde e não havia perfeito contrôle da sua diurese.

4. *Vias de introdução* — O uso intranasal do pó de hipófise posterior, em nossa experiência, mostrou constituir um processo bastante satisfatório, porquanto evita o emprêgo de injeções e pode ser facilmente repetido várias vêzes ao dia. Os efeitos são, entretanto, de pequena duração e às vêzes o paciente torna-se sensível ao pó assim inalado, apresentando fenômenos de irritação nasal, espirros e aumento da secreção mucosa, que tornam a absorção, por essa via, difícil, irregular e diminuta.

Diante dêsse fato procurámos verificar se outras vias de absorção poderiam ser utilizadas. Primeiramente fizemos uma suspensão do pó em alcool e experimentámos a absorção pela mucosa gengival na paciente J. D. (Caso I). A diurese, fóra de qualquer tratamento, era, nesse caso, de 8 litros e a densidade 1005. Durante o período em que a paciente fez uso dessa suspensão alcoólica, a diurese foi de 7.5 litros e a densidade 1004. Não houve, pois, qualquer melhora apreciável de modo a autorizar o emprêgo rotineiro dessa via; pelo contrário, quasi não houve variação consistente entre os periodos com e sem tratamento.

No caso II (C. C.) do trabalho anterior também experimentámos via quasi idêntica. Nesta paciente a suspensão alcoólica foi posta, ao invês de nas gengivas, debaixo da língua, onde, dada a rica rede vascular, poderia haver absorção e efeito satisfatórios. Tal, no entanto, não aconteceu. A diurese que, sem tratamento, variava de 9 a 10 litros nas 24 horas foi a 12 litros, tendo a densidade se conservado muito baixa (1001).

Foi tentada, então, a administração por via oral, dando-se o pó em cápsulas gelatinosas, apesar de saber-se que, certamente, não se obteria resultado satisfatório. Admitindo-se *a priori* uma sensivel destruição do pó no trato gastro-



intestinal, administrou-se quantidade 3 vezes maior do que que a usada por via nasal. Nos dois casos (J. T. e W. N.)em que foi utilizada essa via, os resultados foram nulos.

5. *Outras fontes de preparo do pó* — Em virtude da íntima conexão funcional entre o lobo posterior da hipófise e o hipotálamo, tentou-se também conhecer a atividade antidiurética de pós fabricados a partir do hipotálamo. Na Seção de Endocrinologia do Instituto Butantan foram preparados, então, dois tipos de pós de hipotálamo; um fabricado a custa da porção hipotalámica justaposta à haste hipofisária e outro a partir de porções hipotalámicas situadas mais afastadas da hipófise. Com qualquer um desses pós, por inalação, não se obteve efeito antidiurético.

RESUMO

Os autores apresentam o resultado de novas observações acêrca do diabete insípido, realizadas em 5 pacientes, que podem ser assim sintetizadas:

1.º) O pó de hipófise posterior bovina, em inhalações, mostrou-se ativo nos 5 casos.

2.º) Em um caso, após 10 meses de tratamento, houve diminuição do efeito antidiurético que parece correr por conta de uma resistência ao tratamento, estando sendo feitos estudos experimentais para elucidação do caso.

3.º) O tanato de pitressina, usado em 2 casos, revelou ser ótimo agente terapêutico no tratamento do diabete insípido, perdurando seu efeito antidiurético pelo espaço de 48 a 72 horas.

4.º) Pós obtidos a partir de hipófises humanas revelaram apreciavel efeito antidiurético, si bem que inferior ao verificado com o uso do pó de hipófise bovina.

5.º)A tentativa feita para aproveitamento de outras vias de absorção (gengival, lingual e oral) que não a mucosa nasal não foi coroada de êxito.

6.º) Pós obtidos a partir do hipotálamo (zonas próximas e afastadas da hipófise) também não revelaram efeito antidiurético.

ABSTRACT

New observations were made on 5 cases of Diabetes insipidus which can be summarized as follows:

1. Inhalations of powdered bovine posterior hipophysis proved active in all the patients.

2. In one case, after a 10 months treatment, a decrease of the anti-diuretic effect was stated which seems to be due to a resistence against the treatment, experiments being carried on to elucidate this problem.

3. Pitressin tannate in oil, employed in two cases, proved an optimum therapeutic agent, its anti-diuretic effect lasting from 48 to 72 hours.

4. The powders from human hypophysis showed a considerable anti-diuretic effect, in spite of being inferior to that obtained with the use of powder of bovine hypophysis.

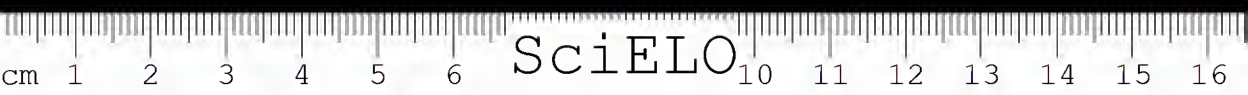
5. Any attempt of using other routes of absorption (gingival, lingual and oral), excepting the nasal mucosa, was insuccessful.

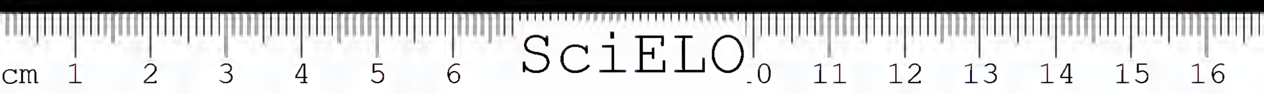
6. Powders prepared from the bovine hypothalamus (regions proximate and distant from the hypophysis) also did not present any anti-diuretic effect.

BIBLIOGRAFIA

1. *Lobo, J. I. & Décourt, Luciano* — Mem. Inst. Butantan **15**: 37.1941.
2. *Rutherford, R. B. & Griffith, Jr., J. Q.* — J. Clin. Endoc. **1**: 916.1941.
3. *Greene, A. J. & January, L. E.* — J. Amer. Med. Assn. **115**: 1183.1940.
4. *Stephens, D. J.* — J. Clin. Invest. **20**: 463.1941 *apud.* J. Amer. Mer. Assn. **119**: 995.1942.
5. *Thorn, G. W. & Stein, K. E.* — J. Clin. Endoc. **1**: 680.1941.
6. *Blotner, H.* — J. Amer. Med. Assn. **119**: 995.1942.
7. *Porto, A.* — Comunicação pessoal.

(Trabalho a Secção de Endocrinologia do Instituto Butantan. Entregue para publicação em novembro de 1942 e dado à publicidade em fevereiro de 1943).




cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

SÔRO ANTI-RICKETTSIA NA FEBRE MACULOSA EXPERIMENTAL

POR

J. TRAVASSOS & A. VALLEJO-FREIRE

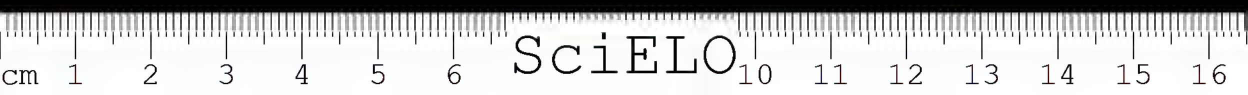
As pesquisas preliminares de Nicolle e Conseil (1), confirmando experimentalmente a já então presumida ação preventiva dos sôros de convalescentes de tifo exantemático, deram margem a ser julgado possivel o preparo de sôros hiperimunes capazes de prevenir ou mesmo curar a infeção no homem. Não foi no entretanto possivel obter sôros eficientes, em animais de grande porte. Todas as tentativas feitas nesse sentido por Nicolle e colaboradores (2), usando como antigenos virus-tecido morto ou vivo (sangue ou órgão de animais de laboratório infetados), não deram resultado satisfatório.

Ante êsse insucesso, chegou-se a acreditar que as propriedades protetoras só se desenvolveriam no sôro de animais sensiveis ao virus, nos quais a infeção tífica é do tipo febril (homem, macaco, cobaia), não se as evidenciando nos sôros de animais insensiveis e nem mesmo naqueles que sofrem uma infeção do tipo inaparente (rato, coelho) (3).

Duas condições seriam, assim, indispensáveis para o preparo dos sôros hiperimunes: a) animal sensivel ao virus e que apresente uma infeção do tipo febril e b) virus-tecido vivo.

O asno, talvez seria o animal de grande porte, de escolha para o preparo de anti-sôro, pois, conforme demonstraram Nicolle e Conseil (4), êle apresentaria uma infeção do tipo febril.

Embora as pesquisas iniciais de Rocha Lima (5) sôbre a possibilidade de se imunizarem animais contra o tifo experimental, usando-se como vacinas emulsões ricas em rickettsias mortas (fenoladas) oriundas de piolhos infetados, tivessem sido desde logo confirmadas por Weigl (6) e Weil e Breinl (7) e infirmadas por Doerr e Schnabel (8), alguns autores preferiram antes emprestar propriedades especiais ao que chamaram "virus-piolho" (poder antigênico quando morto, aglutinação pelo sôro de convalescentes, produção de aglutininas para o *Proteus* X19), do que aceitar definitivamente a *Rickettsia Prowazeki* como agente etiológico do tifo exantemático europeu. O problema ficou em suspenso mesmo depois da aplicação das vacinas de Weigl (9) e de Spencer-



Parker (10) ao homem, vacinas estas preparadas com triturados fenolados de piolhos ou de carrapatos infetados; modificou-se no entretanto definitivamente e tomou a orientação inicial de Rocha Lima, quando se obtiveram culturas de rickettsias em tecido pelos métodos desenvolvidos principalmente por Clara Nigg e Landsteiner (11), que tornaram possivel mantê-las ininterruptas durante três a quatro anos sem perda de virulência e antigenicidade.

Zinsser e colaboradores (12) lograram provar a possibilidade de se vacinar animais, usando como antigenos grandes quantidades de rickettsias mortas, obtidas não nos artrópodos transmissores, mas em vaginais de cobaias infetadas, ratos irradiados com raios X ou em culturas de tecidos. Foi igualmente possivel preparar sôros hiperimunes com ricktettsias formoladas.

Procurou-se desde logo obter grandes quantidades de rickettsias que serviriam como antígenos não só para obtenção de vacinas, como para imunização de animais, afim de se prepararem sôros hiperimunes. As culturas em tecidos nas mãos de Zinsser e seus colaboradores (13) deram resultados promissores; as de Cox (14) na vitelina de embriões de galinha são, no momento, o meio mais prático de obtenção de rickettsias em larga escala. O grande número de rickettsias obtido por meio de pneumonias experimentais, método sugerido por Castañeda (15) e experimentado por Durand e Sparrow (16) serviram não só para êsses autores, como para Durand e Balozet (17) estudarem o preparo de uma vacina e de sôros hiperimunes.

Relativamente ao preparo de sôros hiperimunes contra a febre maculosa, as tentativas preliminares de Ricketts e Heinemann e as de Heinemann e Moore (18) não foram promissoras, dado que usaram como antígenos sangue de cobaias infetadas.

Lemos Monteiro, em 1931 (19), relata as suas primeiras tentativas para o preparo de sôro hiperimune em carneiro inoculado com raspados de vaginais ou lavadura peritoneal de cobaias infetadas, nos quais se encontravam rickettsias em regular número. Verificou Lemos Monteiro que êsse sôro possuia algum poder protetor pela neutralização que exercia sôbre o virus *in vitro*. Igualmente constatou que em sôro de um carneiro inoculado com emulsões de cérebro de cobaia infetada êsse poder era nulo. Nesse trabalho, Lemos Monteiro se propunha, à maneira de Zinsser, usar novos métodos de enriquecimento de rickettsias *in vivo*, e empregar, também, como antígenos, triturados de carrapatos infetados, metodos pelos quais é possível obterem-se rickettsias em grandes quantidades.

Em 1940, Topping (20) conseguiu obter sôros hiperimunes de coelhos inoculados com triturados de carrapatos infetados, nos quais evidenciou propriedades curativas satisfatórias.

Tendo o nosso laboratório conseguido a criação, em larga escala, de *Amblyomma cajennense* infetados e que se destinam ao preparo da vacina contra

a febre maculosa em S. Paulo, foi possivel agora prosseguir as experiências iniciadas no Instituto Butantan por Lemos Monteiro, usando-se como antigenos triturados de carrapatos infetados, muito ricos em rickettsias, para o preparo de sôros hiperimunes.

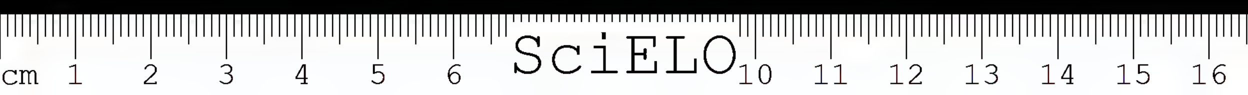
Neste trabalho descreveremos as nossas observações preliminares sôbre o preparo em coelhos de um sôro contra a febre maculosa e estudaremos seus efeitos preventivo e curativo.

Em futura publicação, trataremos da possibilidade de obter êsses sôros em carneiros, cabras e cavalos, bem como de certas questões relativas ao seu mecanismo de ação propriamente dito.

TÉCNICA

Utilizamos coelhos primeiramente inoculados com virus-sangue de cobaia e que, além de servirem para a alimentação de *Amblyomma cajennense* adultos infetados que se destinam ao preparo da vacina contra a febre maculosa, foram, posteriormente, por várias vêzes, picados e inoculados com emulsão de intestino de novos Ixodidas, também infetados. Assim, em coelhos previamente inoculados com virus-sangue de cobaia, colocavamos, por meio de dispositivo especial, duzentos carrapatos adultos infetados previamente nas fases de larva e ninfa, de modo a permitir uma alimentação parcial desses exemplares. Depois de cuidadosa remoção dos carrapatos que eram separados para o preparo da vacina, os coelhos entravam em repouso. Após dois mêses, os poucos animais sobreviventes sofriam novas e repetidas sucções de outros pequenos lotes de Ixodidas infetados. Retirados êsses carrapatos parcialmente alimentados e, decorridos 8 dias, eram êles triturados e inoculados por via subcutânea nesses mesmos coelhos, para o que se procedia da seguinte forma: após rápida desinfeção da carapaça externa por meio de éter, os Ixodidas eram cuidadosamente abertos, cortando-se com tesouras finas os bordos laterais da carapaça; afastada a parte dorsal da parte ventral, retirava-se com pequena espátula o conteúdo interno formado na sua maior parte pelos intestinos, via de regra muito ricos em rickettsias. O material assim obtido era finamente triturado e misturado com solução salina, para em seguida ser inoculado nesses mesmos coelhos.

A inoculação dêsse material foi repetida no minimo quatro vêzes antes do inicio das sangrias, que se sucederam após novas reinoculações de quantidades crescentes de triturados de Ixodidas, até atingir o máximo de quinze por coelho. Conseguimos ultimamente aumentar o número de coelhos que resistem a essas inoculações, assim como à longa permanência nos compartimentos do bioterio, fazendo cuidadosa alimentação enriquecida com óleo de figado de cação, con-



tendo no mínimo 2.000 unidades de vitamina A por ml, além de vitamina D.

A colheita do sangue era feita por punção cardiaca, retirando-se cada vez 20 ml de sangue, aproximadamente. Os sôros, após permanência na geladeira por uma noite, eram centrifugados e misturados, procedendo-se depois à filtração em discos Seitz EK. Acumulamos como resultados de várias sangrias, dois lotes de sôro anti-rickettsia. O primeiro lote, que denominamos *A*, de cêrca de 200 ml, é a mistura dos sôros obtidos das primeiras sangrias; o outro lote, *B*, num total de cêrca de 350 ml, é proveniente da mistrura de sôros obtidos nas últimas sangrias.

Com uma pequena quantidade dessa mistura procuramos, como fez Topping, concentrar o sôro anti-rickettsia pelo método de Felton, mas essas experiências preliminares não nos mostraram resultados satisfatórios. Empregamos, assim, em nossas pesquisas, somente sôro *in natura*, não concentrado.

As cobaias usadas em nossas experiências foram sempre cuidadosamente escolhidas, procurando-se usar lotes de animais, de peso aproximadamente igual e proveniente do mesmo biotério de criação. Sempre que possível, usamos exemplares machos com o fim de facilitar a observação das reações escrotais. Êsses animais em experiência eram mantidos, cada um, em compartimento isolado de nosso biotério, alimentados do mesmo modo e suas temperaturas tomadas na mesma ocasião.

O material infetante utilizado nestas investigações era constituido de sangue citratado de cobaias infetadas, colhido por punção cardiaca no segundo ou terceiro dia da reação térmica. Em quasi todas as experiências, a quantidade de sangue a se utilizar era superior a que se poderia obter de um único animal. Previsto o tipo de experiência e a quantidade de virus-sangue necessária, inoculavamos previamente várias cobaias com virus de passagem de um mesmo animal, sendo estas posteriormente sangradas no dia exato e a mistura de seus sangues usada para inocular as cobaias de prova. Provas de esterilidade do sangue afastavam a possibilidade de contaminações eventuais.

As nossas experiências podem ser assim resumidas:

A) *Neutralização "in vitro".*

1. Mistura de sôro e virus e inoculação após 30 minutos de contacto, permanecendo a mistura durante êsse tempo à temperatura ambiente.
2. Mistura de sôro e virus e inoculação após 30 minutos de contacto, permanecendo a mistura durante êsse tempo à temperatura de 37° C.
3. Mistura de sôro e virus e inoculação após permanência no *frigo* por uma noite.

B) *Neutralização "in vivo".*

1. Mistura de sôro e virus e inoculação imediata em cobaias.
2. Virus por via peritoneal e sôro por via subcutânea.
3. Virus por via subcutânea e sôro por via peritoneal.

C) *Ação preventiva.*

1. Cobaias inoculadas com o sôro são infetadas em diferentes periodos com o virus.

D) *Ação preventiva no periodo de incubação.*

1. Cobaias infetadas recebem o sôro em diferentes dias antes da reação térmica.

E) *Ação curativa.*

1. Cobaias infetadas recebem o sôro uma ou mais vêzes em diferentes dias da reação térmica.

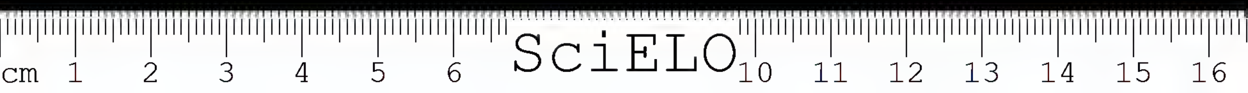
RESULTADOS

A) **Neutralização "in vitro".**

Numa exeperiência preliminar procuramos avaliar a capacidade de neutralização do virus pelo nosso sôro. Assim, quantidades variáveis do sôro foram misturadas a 0.5 ml de um virus-sangue de cobaia, titulado no mesmo momento. Êsse virus demonstrou segura atividade até na diluição de 1 para 100, podendo-se, por êsse modo, presumir que naquela dose de 0.5 ml usado na experiência, tinhamos no mínimo 50 doses infetantes. Os resultados obtidos demonstraram que o nosso sôro era capaz de proteger 50% das cobaias de prova, na dose de 0.1 ml. Essa experiência serviu-nos para orientar as doses de sôro a serem usadas nas experiências ulteriores.

1. *Mistura de sôro e virus e inoculação após 30 minutos de contacto à temperatura ambiente.*

Quatro cobaias foram inoculadas, duas por via subcutânea e duas por via peritoneal, com 1 ml da mistura em partes iguais de sôro anti-rickettsia e virus-sangue obtido de cobaia infetada e em plena reação febril. A mistura, antes de ser inoculada, permaneceu por 30 minutos à temperatura ambiente. Duas outras cobaias testemunhas foram inoculadas na mesma ocasião com 1 ml da



mistura em partes iguais de sôro de coelho normal e virus-sangue, nas mesmas condições.

O Gráfico No. 1 mostra os resultados obtidos, observando-se completa proteção das cobaias inoculadas com a mistura sôro anti-rickettsia-virus. As testemunhas reagem febrilmente, mas sobrevivem.

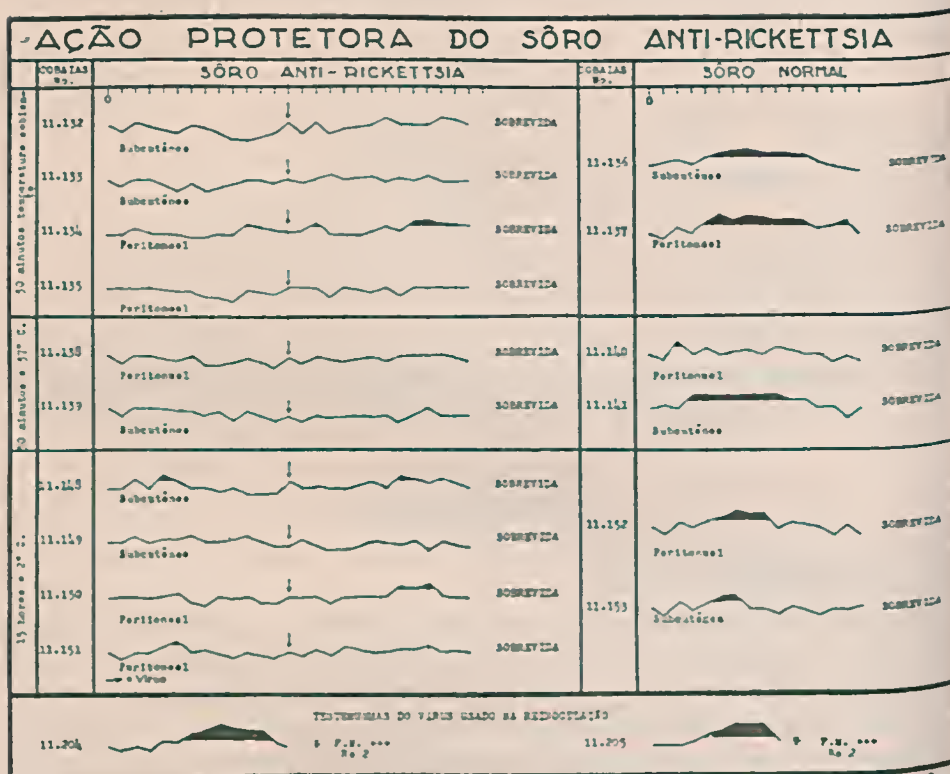


Grafico No. 1

As cobaias de prova mostraram-se imunes quando posteriormente inoculadas com virus seguramente ativo, como evidenciam os gráficos das testemunhas do virus usado na reinoculação.

2. *Mistura de sôro-virus e inoculação após 30 minutos de contacto à temperatura de 37° C.*

Duas cobaias foram inoculadas com 1 ml da mistura sôro anti-rickettsia-virus, nas condições acima e, duas outras, testemunhas, foram inoculadas com a mistura sôro normal-virus, em idênticas condições.

No mesmo Gráfico No. 1 as cobaias que receberam o sôro anti-rickettsia se mostram perfeitamente protegidas, enquanto que uma das testemunhas apresenta reação fraca e sobrevida. Ambas cobaias de prova foram posteriormente reinoculadas, mostrando-se perfeitamente imunes ao virus de passagem.

3. *Mistura de sôro e virus e inoculação após permanência no frigo por uma noite.*

Quatro cobaias foram inoculadas com mistura sôro anti-rickettsia-virus que permaneceu na geladeira a 2.° C. durante 15 horas. O Gráfico No. 1 mostra a completa proteção das cobaias que receberam o sôro anti-rickettsia e, quando posteriormente reinoculadas com o virus de passagem, uma imunidade satisfatória. As testemunhas apresentaram, também, infeções ligeiras e sobreviveram.

As experiencias do Gráfico No. 1 ficaram aparentemente inconclusivas. O virus usado nas misturas que permaneceram quer por 30 minutos na temperatura ambiente, quer por uma noite na geladeira, aparentemente não estavam em condições satisfatórias de virulência, pois as testemunhas que receberam a mistura sôro normal-virus, não reagiram convenientemente.

Entretanto, o fato das cobaias de prova mostrarem uma sólida imunidade após a reinoculação de virus de alta virulência, o que contrasta com o que se observa em geral na prática, chamou a nossa atenção. Como não tivessemos feito testemunhas do virus-sangue utilizado, sem mistura *in vitro* com o sôro de coelho normal, precisavamos inicialmente saber si, na realidade, haviamos trabalhado com virus pouco ativo ou si o sôro normal, naquelas condições das misturas, era capaz de por si só atenuar a virulência do virus. Procuramos verificar, então, si o mesmo fato se repetiria em nova experiência, tanto mais interessante quanto se observa no Gráfico No. 3 que as cobaias testemunhas — inoculadas com sôro normal-virus imediatamente após a mistura — não mostraram um comportamento semelhante.

No Gráfico No. 2 vêm-se os resultados da repetição dessas experiências que visaram esclarecer essas dúvidas. Assim, as duas cobaias testemunhas, 15.488 e 15.489, inoculadas somente com o virus, uma por via subcutânea e outra por via peritoneal, mostraram infeção tipica.

Duas outras cobaias que testemunharam a ação das temperaturas a 37° C. por meia hora e 2.° C por 15 horas (cobaias 15.490 e 15.491) mostraram também infeção e incubação típica, excluindo dêsse modo uma possível ação dessas temperaturas sôbre o virus em experiência. Ao contrário, as cobaias testemunhas da mistura sôro normal-virus e permanência a 37° C por 30 minutos ou permanência a 2° C por 15 horas, confirmaram o fenômeno observado na experiência anterior, isto é, uma certa ação do sôro normal de coelho sôbre o virus-sangue de cobaia infetada, quando mantidas as misturas em contacto du-

rante algum tempo, antes da inoculação nos animais de prova. As testemunhas da mistura sôro normal-virus imediatamente inoculadas — Gráfico No. 3 — e, também, as testemunhas Nos. 15.484 e 15.487, nas quais o soro normal foi injetado por via diferente da do virus — Gráfico No. 2 —, mas na mesma ocasião, dizem-nos que esta ação de neutralização parcial do sôro normal sôbre

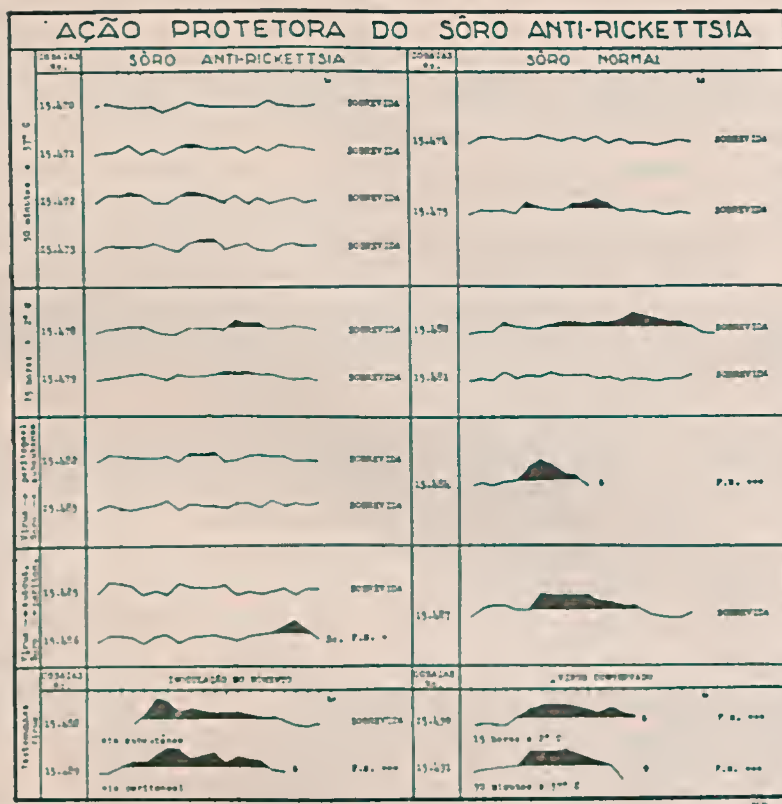


Gráfico No. 2

o virus não se manifesta *in vivo*, evidenciando-se, porém, somente, após prévio contacto *in vitro*, por determinado tempo.

Si aquelas experiências de ação protetora do sôro anti-rickettsia ficam por êsse fato, em parte, prejudicadas, contudo, não se pode negar uma definitiva ação de neutralização, pois não só as cobaias de prova do Gráfico No. 3, como ainda as cobaias, de prova (15.842, 83, 85 e 86 do Gráfico No. 2) da ação protetora *in vivo* do sôro anti-rickettsia, em que êste foi inoculado por via diferente do virus infetante, mas no mesmo momento, esclarecem de modo definitivo essa neutralização e excluem qualquer interferência que o sôro normal pos-

sa exercer, o que, aliás, só foi observado nas experiências de mistura sôro normal-virus, com permanência mais ou menos prolongada *in vitro*.

Em trabalho ulterior descreveremos experiências atualmente em andamento que visam esclarecer êsse fato.

A julgar pelos resultados dessas experiências, o sôro anti-rickettsia apresenta um evidente poder neutralizante *in vitro*.

B) Neutralização "in vivo".

1. *Mistura de sôro e virus e inoculação imediata.*

Quatro cobaias foram inoculadas com 1 ml da mistura em partes iguais de sôro do lote *A* e virus-sangue, imediatamente após a mistura, sendo que duas cobaias por via peritoneal e as duas outras por via subcutânea. Como testemunhas, duas cobaias, receberam 1 ml de uma mistura em partes iguais de virus e sôro de coelho normal, uma por via peritoneal e outra por via subcutânea.

No Gráfico No. 3 podemos ver os resultados. As cobaias que receberam a mistura sôro anti-rickettsia-virus não reagiram febrilmente e, posteriormente, quando reinoculadas com virus-sangue de passagem, mostraram-se imunes. As duas cobaias testemunhas, inoculadas com a mistura sôro normal-virus, não só reagiram febrilmente, como morreram de febre maculosa, apresentando esplenomegalia e reação escrotal tipica.

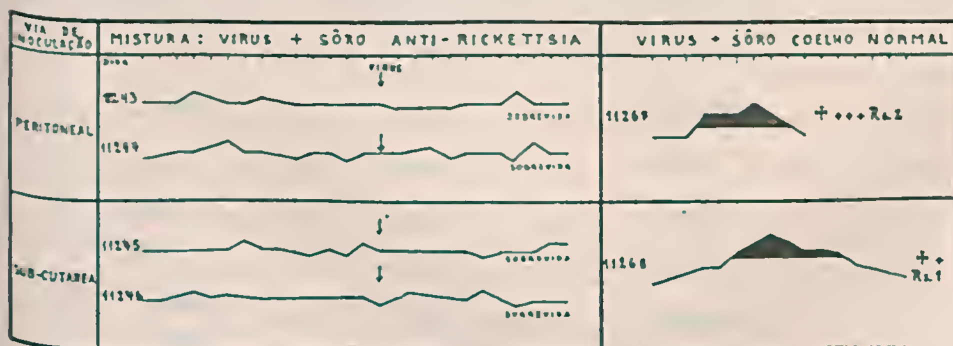


Gráfico No. 3

2. *Virus por via peritoneal e sôro por via subcutânea.*

Duas cobaias receberam 1 ml de sôro anti-rickettsia por via subcutânea e, no mesmo momento, 1 ml de virus-sangue por via peritoneal. A testemunha foi inoculada nas mesmas condições com 1 ml de sôro normal. O Gráfico No. 2 mostra os resultados favoráveis dessas experiências: as cobaias de prova foram protegidas enquanto que a que recebeu sôro normal apresentou reações típicas e morreu da infeção.

3. *Virus por via subcutânca e sôro por via peritoncal.*

Duas cobaias foram injetadas com 1 ml de virus-sangue por via subcutânea e, na mesma ocasião, receberam 1 ml de sôro-anti-rickettsia por via peritoneal. O Gráfico No. 2 mostra-nos que somente uma das cobaias revelou uma pequena alteração de temperatura após o longo período de incubação de 16 dias. Sacrificada, mostrou lesões de febre maculosa de pequena intensidade. A outra cobaia de prova não demonstrou nenhuma alteração, enquanto que a testemunha, inoculada nas mesmas condições com sôro normal, apresentou reação febril típica, mas sobreviveu à infeção.

Como se vê pelos resultados dessas experiências, a neutralização do virus se processa, também, *in vivo*, ainda mesmo quando o sôro e o virus são injetados por vias diferentes.

C) Ação preventiva.

1. *Cobaias inoculadas com o sôro são infetadas em diferentes períodos com o virus.*

Numa primeira experiência doze cobaias foram injetadas com 1 ml de sôro anti-rickettsia do lote *A* e, posteriormente, decorridas 15 horas, 2, 3, 4, 6, 8, 11, 14, 16 e 19 dias, receberam 0.5 ml de virus-sangue por via peritoneal.

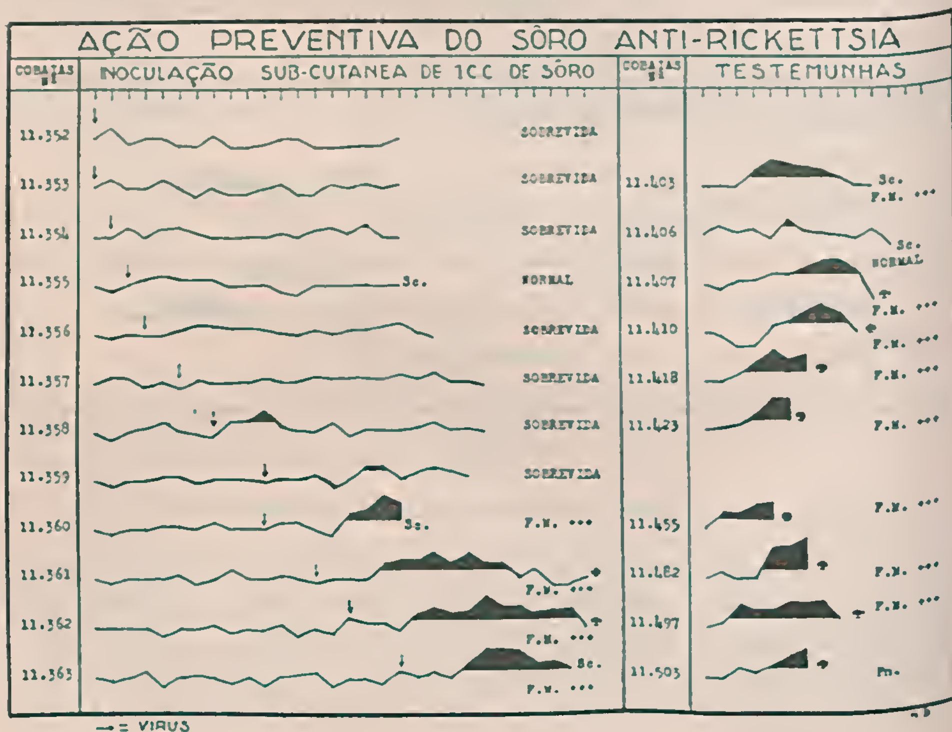


Gráfico No. 4

O Gráfico No. 4, onde estão expostos os resultados, mostra que somente a partir de 11 dias após a inoculação do sôro é que as cobaias começam a reagir francamente ao virus, mostrando-se desprotegidas. Pelo comportamento das testemunhas, cuja maioria apresentou uma infeção típica com morte, pode-se deduzir, desde logo que, realmente, o sôro anti-rickettsia apresenta um nítido poder preventivo.

Uma nova experiência semelhante a esta foi realizada com sôro do lote *B*, sendo que as testemunhas desta experiência foram previamente inoculadas com sôro normal de coelho, afim de ser afastada uma possível causa de erro, o que não tinha sido realizado nas testemunhas da experiência anterior. Assim, 22 cobaias foram divididas em dois lotes, as cobaias de um dêles receberam 2 ml de sôro anti-rickettsia e as do segundo lote (testemunhas) foram injetadas com 2 ml de sôro normal. Essas cobaias receberam posteriormente virus-sangue no 4.º, 5.º, 6.º, 7.º, 8.º, 10.º, 11.º, e 12.º dia, após a inoculação dos sôros.

O Gráfico No. 5 revela, em primeiro lugar, a nenhuma influência protetora do sôro normal de coelho sôbre o desenvolvimento da infeção maculosa. Ao contrário, as cobaias que foram previamente tratadas com o sôro anti-rickettsia, mostram segura proteção nos primeiros dias, essa proteção tornando-se irre-

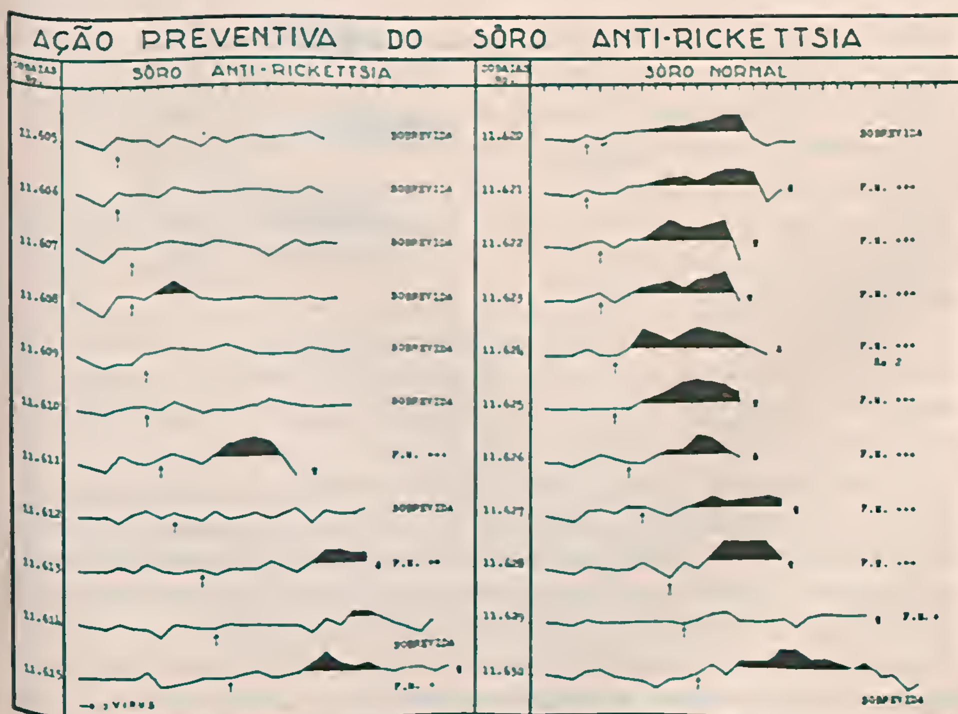


Gráfico No. 5

gular a partir do 7.º dia, apresentando as cobaias ou infeção nítida, como no caso da cobaia 11.611, ou proteção parcial com alongamento no período de incubação, como nas cobaias 11.613 e 11.615.

Essas experiências preliminares permitem, desde logo, observar um nítido poder preventivo do sôro anti-rickettsia. É claro que elas não podem precisar o limite de proteção passiva do sôro, pois, de um lado, a virulência variável dos virus inoculados nos diferentes dias não permite uma uniformidade experimental e, de outro lado, a pequena quantidade de sôro de que dispunhamos não permitiu inocular maior número de cobaias ou usar maiores doses de sôros, de modo tal que, para um mesmo dia e com um mesmo virus, grupos de pelo menos 10 cobaias de prova e outras tantas testemunhas, permitissem uma melhor apreciação dos resultados.

Até que ponto, depois de uma inoculação de virus, o sôro anti-rickettsia protege contra a infeção, o item seguinte procura esclarecer.

D) **Ação preventiva no período de incubação.**

1. *Cobaias infetadas recebem o sôro em diferentes dias. antes da reação térmica.*

No item *B* já se pode considerar estudada a primeira parte desta experiência, isto é, cobaias infetadas pelo virus recebem na mesma ocasião sôro anti-rickettsia por via diferente. Procedemos a novas experiências, alongando o espaço de tempo entre a inoculação preliminar do virus e a injeção do sôro.

Numa primeira experiência, 1 ml de sôro anti-rickettsia do lote *A* foi injetado em quatro cobaias por via peritoneal, 2 e 3 dias após a inoculação do virus por via subcutânea. Quatro cobaias testemunhas foram tratadas nas mesmas condições com sôro normal.

O Gráfico No. 6 mostra que, enquanto essas testemunhas revelaram uma infeção típica, morrendo três delas de febre maculosa, somente uma das quatro cobaias de prova, a que recebeu o sôro protetor no 3.º dia, apresentou reação térmica, sobrevivendo à infeção.

Numa segunda experiência, sete cobaias inoculadas previamente com virus-sangue por via subcutânea receberam após 1 a 7 dias da inoculação do virus 2 ml de sôro anti-rickettsia do lote *B* por via peritoneal. Três cobaias testemunhas, também inoculadas com virus-sangue por via subcutânea, receberam 2 ml de sôro normal no 2.º, 5.º e 7.º dia após a inoculação do virus.

Das três cobaias testemunhas, duas mostraram uma reação térmica prolongada, mas sobreviveram à infeção, enquanto que a terceira teve uma infeção mortal, mostrando à necrópsia lesões típicas.

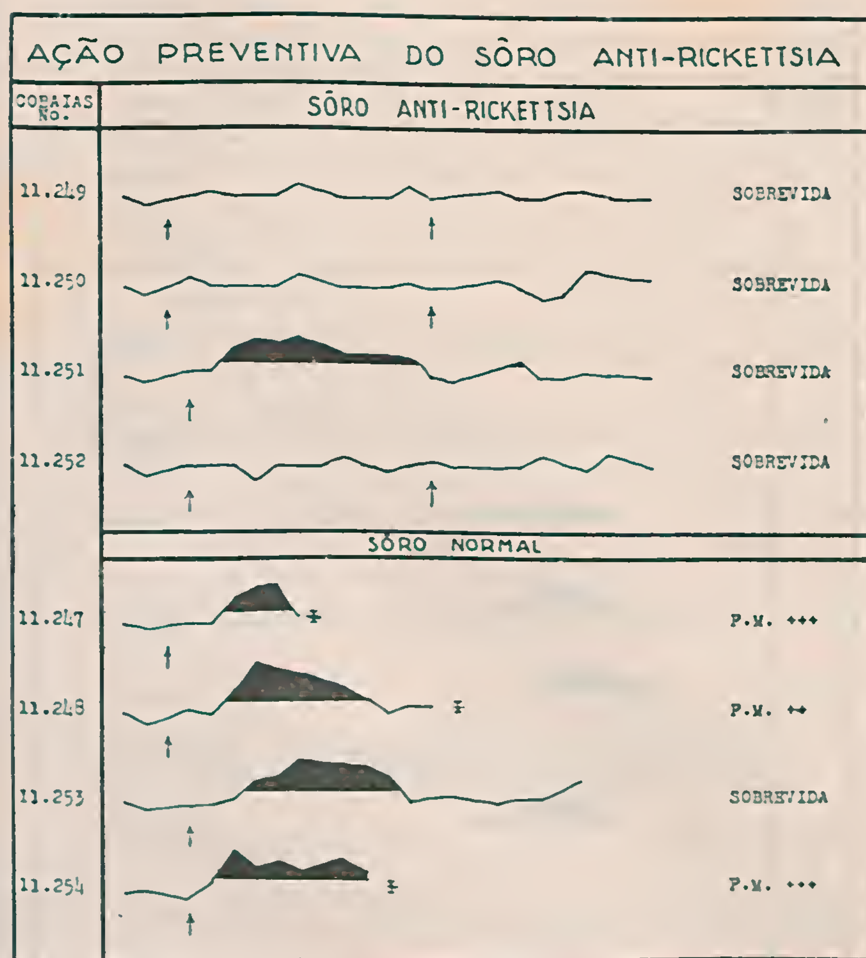


Gráfico No. 6

No Gráfico No. 7 vêm-se os resultados.

Das cobaias de prova as quatro primeiras inoculadas com o sôro anti-rickettsia do 1.º ao 4.º dia, mostraram-se protegidas. As cobaias inoculadas no 5., 6.º e 7.º dia sofreram uma infeção comparável à das testemunhas.

Os resultados destas pesquisas mostram-nos, de modo mais ou menos nítido, a proteção que ainda pode exercer o sôro quando inoculado no período de incubação e tanto mais eficaz quanto mais precoce fôr a sua aplicação. Êlas são reforçadas pelos resultados de uma outra experiência feita no limite dêsse período, isto é, no 4.º dia após a inoculação do virus, dia em que já a primeira manifestação térmica da infeção pode ser observada em grande número de ani-

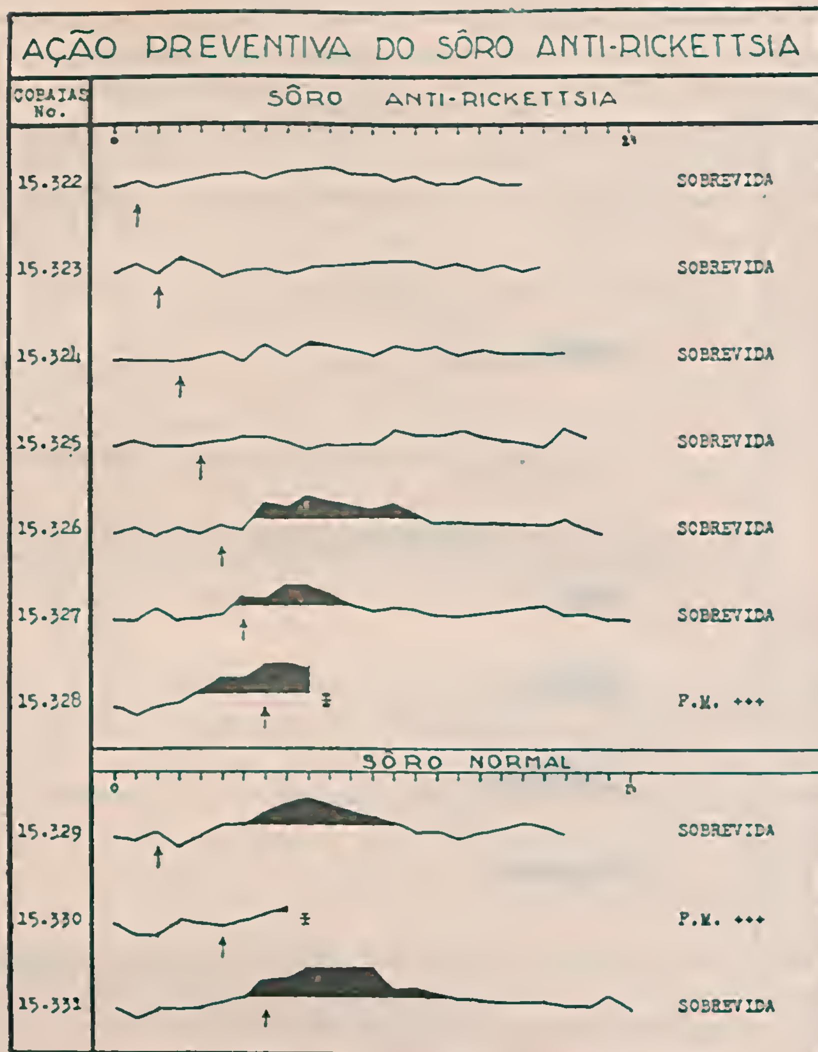


Gráfico No. 7

mais. Essa experiência, que é descrita com minúcia no item seguinte e cujos resultados estão expostos no Gráfico No. 9, mostra, de modo nítido, a proteção eficiente do sôro anti-rickettsia ainda quando inoculado tardiamente no período de incubação ou mesmo quando a primeira manifestação térmica da infeção é observada.

Êsses resultados, parece-nos, não deixam lugar a dúvidas sôbre o nítido valor profilático do sôro.

E) Ação curativa.

1. *Cobaias infetadas recebem o sôro uma ou mais vêzes em diferentes dias da reação térmica.*

Numa pesquisa preliminar tomou-se em consideração, para início das experiências sôbre o poder curativo do sôro, o fato de, nas infeções experimentais das cobaias, a reação térmica se evidenciar, em geral, a partir do 3.º ou 4.º dia da inoculação infetante. Tratando-se de virus mantido em laboratório por passagens sucessivas em cobaias e de alta virulência, o período de incubação raramente se prolonga além do 6.º dia. Assim, levando em consideração êsse fato, uma primeira experiência foi realizada com doze cobaias infetadas, por via subcutânea, com 0.5 ml de virus-sangue. Essas cobaias foram divididas em dois lotes de seis cada um, o primeiro para as provas com o sôro anti-rickettsia e o segundo, como lote-testemunha, recebendo sôro de coelho normal.

Nas cobaias do primeiro lote, injetou-se diariamente 1 ml do sôro anti-rickettsia do lote *A*, duas cobaias a partir do 4.º dia da inoculação do virus e durante 4 dias seguidos; duas outras a partir do 5.º dia e também 4 dias seguidos; e, finalmente, as duas restantes, a partir do 6.º dia e durante 5 dias seguidos. As cobaias do segundo lote, testemunhas, foram tratadas de modo análogo, com sôro normal.

O Gráfico No. 8, no qual se vêm os resultados da ação terapêutica do sôro, realizada pela administração de pequenas doses sucessivas, mostra, já de início, um grande contraste: enquanto que das seis testemunhas tratadas com sôro normal somente uma sobreviveu à infeção, das seis cobaias tratadas pelo sôro

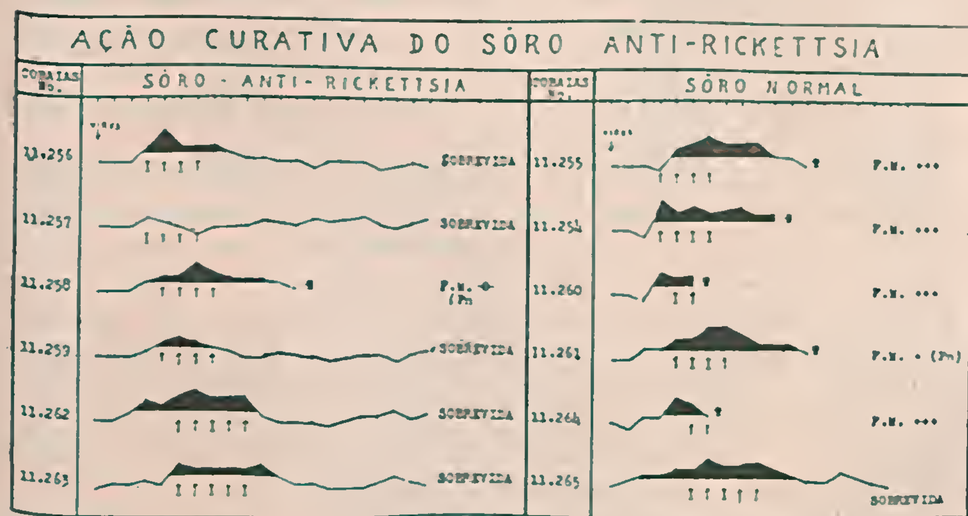


Gráfico No. 8

anti-rickettsia somente uma morreu, não mostrando esta última, à necrópsia, apesar de sua curva térmica ter sido típica de febre maculosa experimental, lesões macroscópicas apreciáveis, morrendo de pneumonia secundária. As testemunhas, ao contrário, mostraram lesões típicas e pronunciadas, com uma única exceção, a da cobaia No. 11.261.

No que diz respeito ao efeito do sôro sôbre a reação térmica, a curva da cobaia No. 11.257, a única que não reagiu febrilmente, pode ser interpretada ou como uma infeção inaparente, ou como efeito inibidor do sôro, uma vez que ela foi inoculada antes da alteração nítida da temperatura, inoculação, portanto, no período de incubação. A curva térmica da cobaia 11.259 parece mostrar, por sua benignidade, um certo efeito do sôro, mas isto certamente contrastada com as curvas térmicas das demais cobaias, nas quais êsse fato não foi verificado.

Numa segunda experiência, foi diminuido o número de injeções, porém, aumentadas as doses de sôro anti-rickettsia. Trinta e duas cobaias, todas machos e de peso oscilando entre 350 e 450 g, foram inoculadas na mesma ocasião com virus-sangue proveniente de várias cobaias infetadas e em pleno período febril. Cada cobaia recebeu 0.5 ml da mistura sanguínea citratada (virus-sangue) por via subcutânea e foi individualmente colocada em compartimento separado de nosso biotério, sendo as temperaturas tomadas na mesma hora, com termómetros mantidos em soluções antissepticas antes do uso em cada animal.

Essas 32 cobaias foram divididas em dois grandes lotes: o primeiro tratado com sôro anti-rickettsia e o segundo com sôro de coelhos normais. Das cobaias tratadas com sôro anti-rickettsia, oito receberam duas injeções de sôro, com intervalo de 48 horas, a primeira de 2 ml no 4.º dia e a segunda de 1.5 ml no 6.º dia da inoculação infetante. As outras oito cobaias dêsse mesmo lote receberam três injeções de sôro anti-rickettsia, no 5.º, 7.º e 9.º dia após a inoculação infetante, sendo a primeira de 2 ml, a segunda de 1.5 e a terceira de 1 ml.

As testemunhas, grupadas de maneira idêntica, foram inoculadas de modo análogo com sôro obtido de coelhos normais.

Comparando-se as reações febris verificadas no primeiro lote de animais tratados com sôro anti-rickettsia com as testemunhas correspondentes (Gráfico No. 9), verifica-se desde logo uma manifesta ação do sôro sôbre a reação febril. Nos animais de prova que receberam o sôro antes da elevação pronunciada da temperatura, esta ou não mais se evidenciou, ou então, mostrou-se pouco elevada, apenas por um ou dois dias. Naquelas cobaias, nas quais o sôro foi inoculado no mesmo dia da primeira elevação da temperatura, verificou-se ou a volta à normalidade ou, então, o encurtamento do período febril. Êste efeito sôbre a temperatura é menos nítido nas cobaias de prova do segundo grupo, que receberam o sôro anti-rickettsia a partir do 5.º dia.

Quanto à ação do sôro anti-rickettsia, impedindo a alta mortalidade peculiar à febre maculosa experimental em cobaias, o contraste é evidente, pois

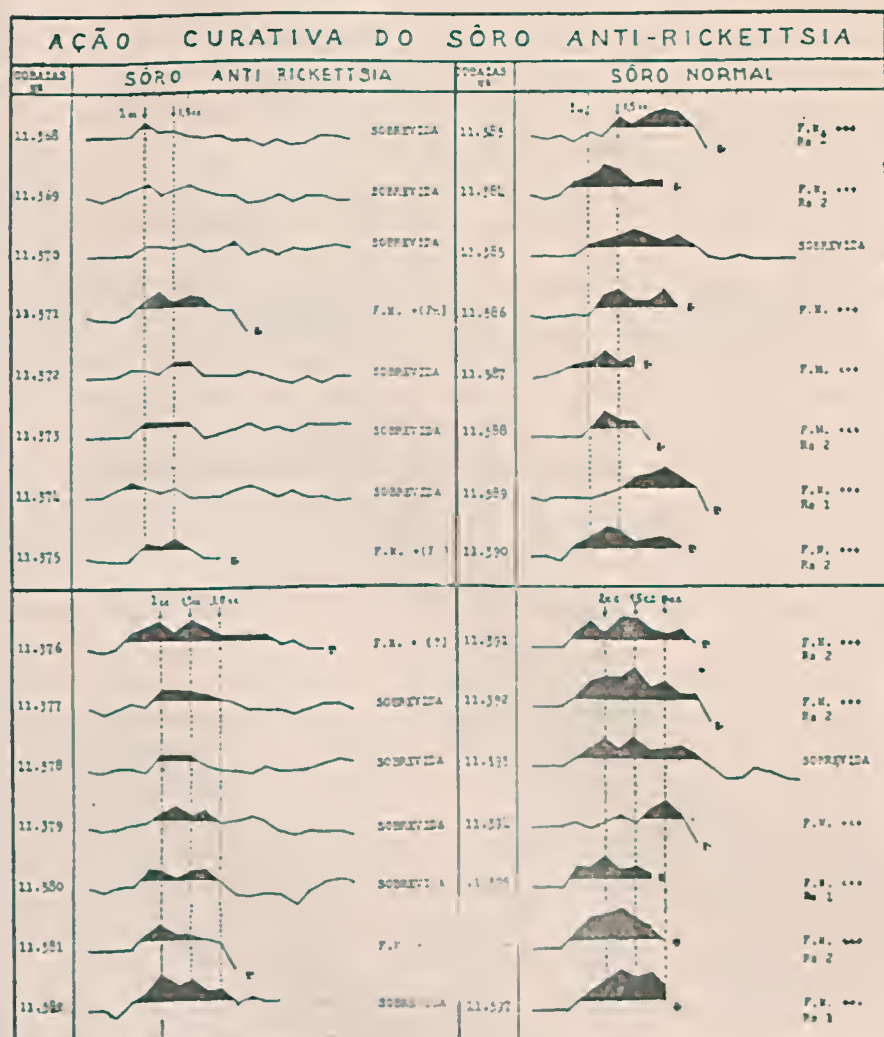


Gráfico No. 9

que, entre aquelas cobaias tratadas com duas doses de sôro anti-rickettsia, somente duas morreram e, à necrópsia, as lesões macroscópicas apresentadas eram de infeção fraca, mostrando apenas uma discreta esplenomegalia, parecendo, pela grande congestão pulmonar concomitantemente observada, que a *causa mortis* teria decorrido de uma infeção secundária (pneumonia). Pelo contrário, das oito testemunhas correspondentes, somente uma sobreviveu e as sete demais apresentaram ao exame macroscópico lesões graves de febre maculosa.

Outro fato que se reveste de interêsse, tratando-se de experiências feitas somente com o emprêgo de cobaias machos, é a presença de reações escrotais em cinco das oito cobaias testemunhas. Entre os animais injetados com o sôro anti-rickettsia, ao contrário, nenhum apresentou reação escrotal. Parece, pois, evidente a ação do sôro, não só em relação à curva térmica e à diminuição da mortalidade, como também sôbre a reação escrotal.

No segundo grupo de cobaias desta mesma experiência, isto é, nas tratadas com três doses de sôro anti-rickettsia, iniciando-se o tratamento após decorridos cinco dias da injeção infetante, os resultados são semelhantes aos do grupo anterior, no que diz respeito à proteção exercida pelo sôro. Entre os animais tratados, dois morreram com sintomas discretos de febre maculosa, sobrevivendo os restantes, o que contrasta nitidamente com o que se observa no grupo das testemunhas tratadas com sôro normal, nas quais, ao contrário, somente um sobreviveu, mostrando todas as demais sintomas intensos de febre maculosa, inclusive, em cinco das oito cobaias contrôles, reações escrotais evidentes.

A ação do sôro nos casos em que a sua aplicação coincidiu com a primeira elevação da temperatura, sempre influiu sôbre a evolução da curva térmica. Quando, pelo contrário, a inoculação do sôro coincidiu com o 2.º ou 3.º dia da reação febril, a sua ação protetora não se fez sentir de maneira apreciável sôbre a curva térmica.

Nessas experiências foi possível observar, assim, não só uma nítida influência do sôro sôbre a reação térmica dos animais, ação essa tanto mais acentuada quanto mais precoce foi iniciado o tratamento, como, também, uma nítida ação do sôro sôbre o desenvolvimento das lesões orgânicas, acentuadamente sôbre a esplenomegalia e a reação escrotal. Ainda uma nítida ação anti-letal.

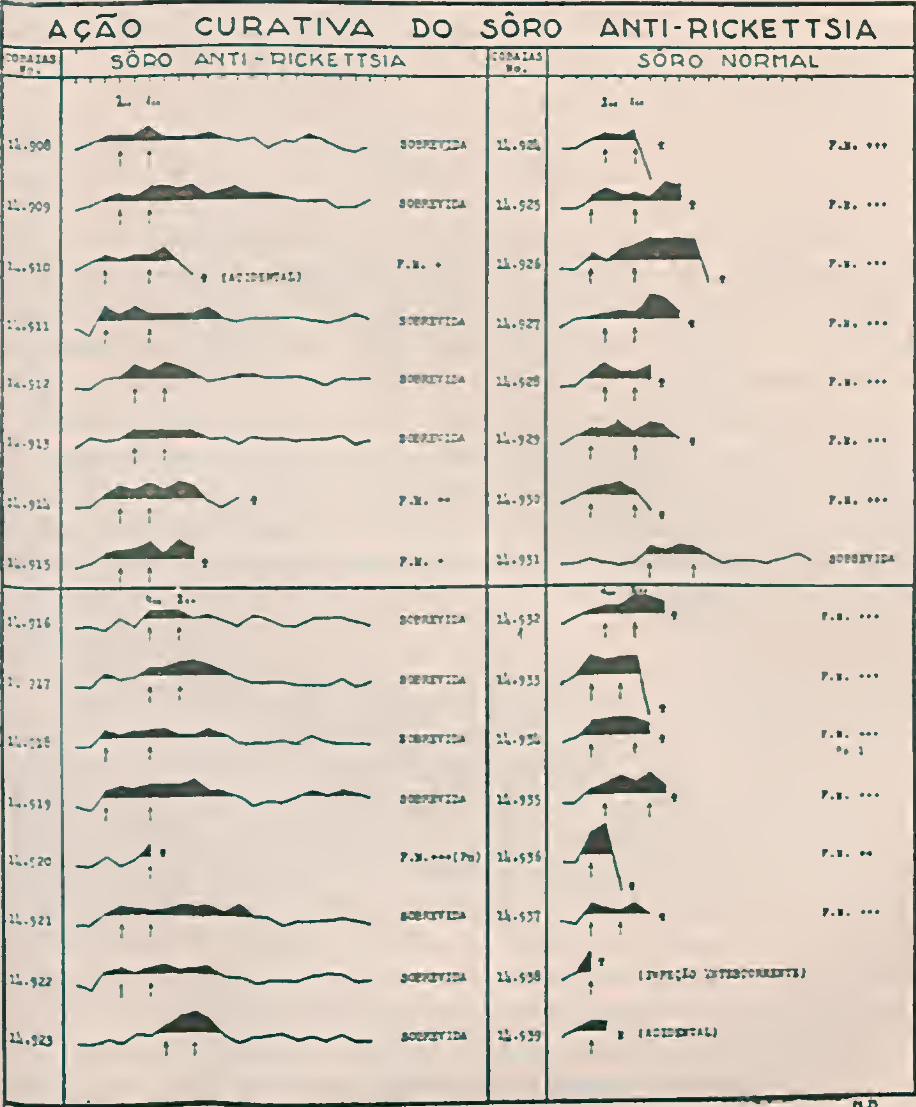
Com o sôro do lote *B* procuramos repetir a experiência anterior, porém, fazendo coincidir a primeira inoculação do sôro com o primeiro dia em que a temperatura atinge 40ºC ou mais, ao invés de iniciar o tratamento decorrido um prazo certo após a injeção infetante.

Tomados idênticos cuidados aos da experiência anterior em relação aos animais de prova, 32 cobaias, infelizmente quasi todas fêmeas, o que veio prejudicar a observação referente às reações escrotais, foram inoculadas com vírus-sangue obtido de várias cobaias infetadas com uma mesma amostra de vírus. Cada uma das 32 cobaias recebeu 0.5 ml da mistura de sangue citratado, por via subcutânea.

A metade das cobaias de prova recebeu 2 ml de sôro anti-rickettsia no primeiro dia em que a temperatura atingiu 40ºC ou mais e, decorridas 48 horas (seis cobaias) ou 72 horas (duas cobaias), mais 1 ml. A outra metade do lote de prova recebeu, nas mesmas condições, uma primeira injeção de 4 ml de sôro anti-rickettsia e, decorridas 48 horas (cinco cobaias) ou 72 horas (duas cobaias), uma segunda injeção de 2 ml.

As testemunhas foram tratadas de maneira semelhante com sôro normal.

O Gráfico No. 10, que resume os resultados, mostra, tal como nas experiências anteriores, que a maioria das cobaias tratadas com sôro anti-rickettsia sobrevive à infeção. Assim, enquanto que, das dezesseis testemunhas, quinze não resistem à infeção mortal de febre maculosa, das tratadas com sôro, doze sobrevivem. Vê-se, igualmente, embora de modo muito menos nítido do que na experiência anterior, que as cobaias que receberam maior quantidade de sôro



(Segundo fotografia do S. P. H. A. N.).

Gráfico No. 10

restabeleceram-se, no que diz respeito à reação térmica, mais prontamente do que as que receberam menor dose. Esta experiência veio, assim, confirmar a anterior.

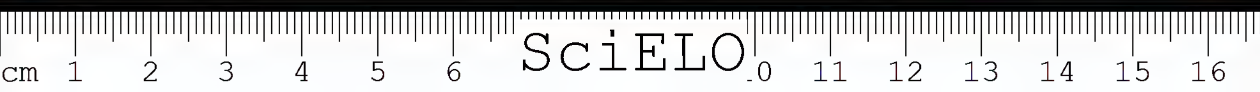
Não se pode negar, pelos resultados dessas experiências, que o sôro anti-rickettsia tem um evidente poder curativo sôbre a infeção maculosa experimental da cobaia. Como é natural, êsse efeito protetor é tanto mais evidenciável, quanto mais precocemente forem tratados os animais infetados. Nas nossas experiências feitas a partir do 5.º dia de febre, nenhum resultado nítido se obtem, morrendo os animais quasi que na mesma proporção dos testemunhas. Em se tratando de virus de alta virulência, com uma evolução clinica grave e quasi sempre mortal, melhores resultados não poderiam ser esperados.

COMENTÁRIOS

As experiências expostas neste trabalho, que visam mais uma vez demonstrar a possibilidade de ser preparado um sôro hiperimune, eficaz em seus efeitos preventivo e, quiçá, curativo, contra uma das mais virulentas modalidades de rickettsiose, a febre maculosa, abrem um caminho sem dúvida interessante para ulteriores investigações.

Os insucessos primitivamente obtidos pelos experimentadores que visaram preparar anti-sôros contra o *typhus* decorreram do emprêgo de antígenos inadequados. Assim, aos nítidos efeitos protetores dos sôros de convalescentes ou de animais sensiveis experimentalmente infetados, quando sangrados dentro das duas primeiras semanas após a queda de temperatura, contrapunham-se os resultados praticamente negativos obtidos com sôros de animais de maior porte (carneiro, cavalo) repetidamente inoculados com sangue ou triturados de órgãos de cobaias infetadas, isto é, com virus-tecido vivo ou morto. Mesmo naqueles animais que reagem febrilmente ao virus, quando repetidamente vacinados com emulsões de órgãos ou sangue, destruida a vitalidade do virus pelo calor ou processo químico, não se conseguiu imunizá-los contra ulterior inoculação do virus. Êsses fatos fizeram, então presumir que somente os animais verdadeiramente infetados, com hipertermia, eram capazes de gerar anticorpos protetores. Excluia-se, assim desde logo, para o preparo de sôros hiperimunes, a possibilidade de usar-se como antígenos virus-tecido morto e, também, o emprêgo de animal que não reagisse febrilmente à inoculação infetante. Nesse particular, Nicolle selecionou o asno como animal de grande porte para essa ordem de trabalhos, uma vez que êle reagia febrilmente às inoculações do virus.

Confirmados que foram os trabalhos iniciais de Rocha Lima sôbre a possibilidade de se vacinarem animais contra o *typhus* experimental, usando-se como vacinas emulsões ricas em rickettsias, mesmo mortas (fenoladas), tal como fi-



cou perfeitamente demonstrado pelos estudos em tôrno das vacinas de Weigl e Spencer-Parker, as pesquisas ulteriores orientaram-se nesse sentido. Zinsser e sua escola trataram desde logo de obter grandes quantidades de rickettsias a serem usadas como antigenos, e o emprêgo de diferentes meios técnicos veio demonstrar que não só no artrópodo vetor é possível consegui-las. Nos próprios animais de laboratório, ou em culturas-tecido, conseguem-se hoje emulsões muito ricas em rickettsias, que podem ser utilizadas como antigenos, não só para o preparo de vacinas, como para o de sôros hiperimunes.

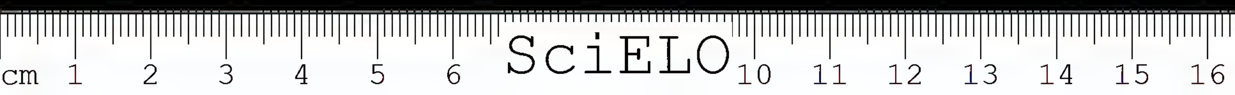
Nas tentativas já feitas nesse sentido têm-se usado ora o coelho, ora o cavalo, como animais capazes de se hiperimunizarem e fornecerem sôros com apreciáveis propriedades protetoras. O emprêgo dêsse último animal, que responde apreciavelmente às inoculações do antigeno-rickettsia, exclue, também, a suposição de que só naqueles animais que apresentam uma infeção típica, com desenvolvimento febril, pudessem ser encontrados os anticorpos protetores em teor apreciável. No momento, estamos imunizando cavalos por inoculações repetidas de antigeno-rickettsia e já podemos afirmar, pelas provas preliminares que temos realizado, que êsses animais respondem ao antígeno com um desenvolvimento apreciavel de anticorpos protetores. Em trabalho a ser publicado a seguir, mostraremos essa possibilidade, bem como as provas que usamos para avaliação do teor de anticorpos.

Neste trabalho expusemos as nossas pesquisas preliminares sôbre a possibilidade de se preparar sôros hiperimunes em coelhos. Hoje, êsses animais já são empregados rotineiramente nos laboratórios que se dedicam ao fabrico do sôro anti-pneumocócico, não sendo assim, portanto, um animal a desprezar pelo seu pequeno porte, uma vez que êle se revele de valia na produção de sôros hiperimunes eficazes.

Nas experiências, expostas neste trabalho, obtivemos resultados animadores com o emprêgo do sôro preparado em coelhos, já como elemento preventivo da doença, quando aplicado nos primeiros dias que decorrem da inoculação infetante, já como elemento profilático, para evitar por certo tempo uma provável e ulterior infeção. Neste último caso, as atuais pesquisas fazem presumir que essa prevenção, por meio do sôro, se realiza por cêrca de uma semana, tempo, sem dúvida, já suficiente para que se possa recorrer a uma imunização ativa pela vacina, sempre mais eficaz.

As nossas experiências sôbre o poder curativo, tais como as de Topping, também foram animadoras, sobretudo aquelas em que o sôro foi inoculado nos primeiros dias da reação febril.

Enfim, essas experiências animam-nos a prosseguir nessa ordem de pesquisas.



CONCLUSÕES

Um sôro anti-rickettsia, preparado em coelhos, mostrou evidente poder neutralizante sôbre o virus da febre maculosa, tanto *in vitro* como *in vivo*. Também puderam ser demonstrados efeitos preventivo e curativo sôbre a infeção experimental da cobaia.

ABSTRACT

The experiences performed in 1931 by Lemos Monteiro, at the Instituto Butantan, in regard to the obtention of hyperimmune anti-*Rickettsia* sera active against the "São Paulo typhus" (Spotted fever in São Paulo) were continued by the authors, who were able to prepare a serum in rabbits of evident preventive and curative properties, such, as that recently obtained by Topping, in the United States.

The technic employed is described in detail. Rabbits infected with virus-blood and used for the feeding of *Amblyomma cajennense* specimens destinated for the preparation of the vaccine, were employed for the obtention of the serum after a two months rest. After being submitted to repeated bites and inoculated with triturations of new lots of infected adult *Ixodidae*, they were bled several times. The tests were made in experimentally infected guinea pigs.

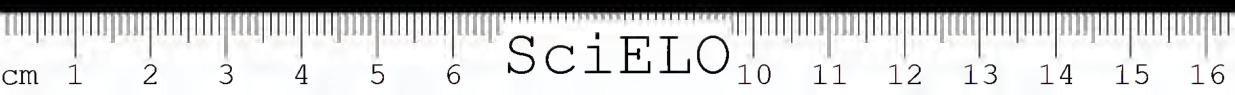
The serum thus obtained showed: 1) Neutralizing power on the virus' action, both *in vitro* and *in vivo*; 2) effectiveness in immunizing passively for about a week; 3) effectiveness in preventing the infection when inoculated during the incubation period; 4) curative action when inoculated in the first days of the thermic reaction, evidenciated, mainly, the lessened intensity of the organic lesions and distinct fall of mortality.

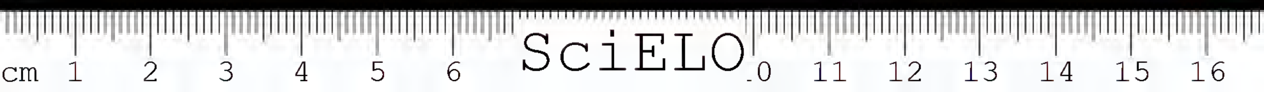
BIBLIOGRAFIA

1. *Nicolle, C. & Conseil, E.* — C. R. Acad. Sc. **151**: 598.1910.
2. *Nicolle, C. et al.* — Bull. Acad. Med. **75**:95.1916; Ann. Inst. Pasteur **30**:446.1916 et Presse Méd. **33**: 1.224.1925.
3. *Felix, A.* — A system of bacteriology **7**: 422.1930.
4. *Nicolle, C. & Conseil, E.* — Arch. Inst. Pasteur Tunis **14**: 355.1925.
5. *Rocha Lima, R.* — Münch. med. Wschr. **65**:1.454.1918.
6. *Weigl, R.* — Przeg. Epidem. 1:15.1920 *in* A System of bacteriology **2** 1930.
7. *Weil, E. & Breinl, F.* — Ztschr. f. Immunitätsforschg. **39**:330.1924
8. *Doerr, R. & Schnabel, A.* — Wien. Klin. Woch. **32**:523 *et* 891.1919.
9. *Weigl, R.* — Arch. Inst. Pasteur Tunis **22**: 315.1933 et Bull. Internat. Acad. Polonaise Sc. et Lettres 125.1930.

10. *Spencer, R. R. & Parker, R. R.* — U. S. Publ. Health Rep. **40**:2.159.1925.
11. *Nigg, C. & Landsteiner, K.* — Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. **28**:3.1930; J. Exp. Med. **61**:17.1935 *et* **63**:341.1936.
12. *Zinsser, H. et al.* — J. Exp. Med. **51**:847.1930 *et* **57**:380.1933; Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. **29**:840.1932 *et* **35**:85.1936.
13. *Zinsser, H. et al.* — Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. **37**:604.1937 *et* C. R. Soc. Biol. **127**:229.1938.
14. *Cox, H. R.* — U. S. Publ. Health Rep. **53**:2.241.1938.
15. *Castañeda, M. R.* — Amer. J. Path. **15**:467.1939.
16. *Durand, P. & Sparrow. H.* — Arch. Inst. Pasteur Tunis **29**:1.1940.
17. *Durand, P. & Balozet, L.* — Arch. Inst. Pasteur Tunis **29**:363.1940 *et* **30**:1.1941.
18. *Heinemann, W. & Morre* — J. Inf. Dis. **10**:294.1912.
19. *Monteiro, J. Lemos* — Mem. Inst. Butantan **6**:13.1931.
20. *Topping, N. H.* — U. S. Publ. Health Rep. **55**:41.1940.

(Trabalho da Seção de Virus e Virusterapia do Instituto Butantan. Apresentado à Soc. de Biol. de S. Paulo, sessão de 8-4-941. Entregue para publicação em novembro de 1942 e dado à publicidade em fevereiro de 1943).





537.87

AÇÃO DA PRATA ELETROLISADA SÔBRE CERTAS TOXINAS, VENENOS, PROTOZOÁRIOS, RICKETTSIAS, VIRUS FILTRÁVEIS E BACTERIÓFAGOS

(*Nota prévia*)

POR

J. TRAVASSOS & E. BIOCCA

Uma corrente elétrica continua, passando entre eletrodos de prata imersos em água, provoca uma dissociação iônica dêsse metal. A quantidade de prata dissociada é regulada pela lei de Faraday e corresponde teoricamente a 4.023 g por hora, si a intensidade elétrica for de 1 Ampere.

As pesquisas de Krause e outros demonstraram que êsses ions de prata são dotados de potentíssima ação bactericida.

As aplicações dêsses estudos no campo da higiene são hoje inúmeras. Sabe-se que, por êsse meio, se conseguem destruir rapidamente nas águas as formas vegetativas das bactérias e aquelas, assim tratadas, mantêm por muito tempo a atividade esterilizante. Segundo citam Alessandrini e Labranca, seria suficiente uma quantidade de prata eletrolisada inferior a 100γ para esterilizar 1 litro de água potável; 150 — 200γ para água de piscinas e 400γ para fabricação de gêlo. Até mesmo as algas de vegetações verdes perderiam rapidamente a vitalidade nas piscinas, cujas águas são tratadas pelo método eletrocatadínico. Os esporos das bactérias, ao contrário, não seriam inativados.

Ultimamente têm sido propostas aplicações dêste método no campo da imunologia. Assim, Rainsford, em 1937, mostrou que era possível preparar ótimas vacinas com bactérias mortas pela ação da prata eletrolisada, sem nenhuma modificação de suas propriedades antigênicas. Mesmo os antígenos mais lábeis não seriam por ela influenciados. Foi assim que se conseguiram preparar facilmente vacinas e antisôros com o antígeno *Vi* da *E. typhi*, tão sensível a todos os agentes físicos e químicos (Rainsford, Labranca, etc.).

A ação da prata eletrolisada sôbre toxinas, venenos, protozoários, rickettsias, virus filtráveis e bacteriófagos é ainda pouco conhecida. Procuramos verificar essa ação e nesta nota damos os resultados de nossas primeiras experiências.

TÉCNICA

Um pequeno aparelho constando de uma pilha elétrica de 1.5 Volt, com 2 eletrodos de prata, medindo cada um 8 cm de comprimento e cêrca de 2 mm de diâmetro, foi por nós empregado para ativar geralmente cêrca de 5 ml de água de torneira, por um tempo variavel de 30 a 90 minutos. Nestas primeiras provas não fizemos dosagens da quantidade de prata dissociada. Os diferentes materiais a estudar eram misturados, nas doses convenientes, a essa água assim ativada e após cêrca de 30, 60 ou 90 minutos de contacto, é que iniciavamos as provas. Os contrôles para verificar si a água estava realmente ativa, eram geralmente feitos com emulsões de estafilicocos.

Adotamos essa técnica por termos verificado que, eletrolisando a prata diretamente na diluição em água do material em estudo, pode-se observar concomitantemente um fenômeno de cataforese, com fixação do material ativo em um dos polos, dando impressão errônea dos resultados. Assim, nas nossas primeiras provas feitas por eletrocatadinização direta de diluições de toxinas diftérica e tetânica, por 1 hora, foi notada, tanto numas como noutras, notável diminuição do poder tóxico, podendo essa alteração atingir 20 D.M.L., o máximo experimentado. Com venenos de serpentes (*Bothrops jararaca* e *Crotalus terrificus terrificus*), em diluições de 2 até 30 D.M.L., o mesmo acontece. O fato foi melhor verificado com soluções de nitrato de estricnina e de uma azo-estricnina, observando-se em um dos eletrodos a cristalização do alcalóide puro, após a quebra dos ligames nitrato e diazoico, perdendo o liquido, depois do tratamento, grande parte de seu poder tóxico.

RESULTADOS

Toxinas — Diluições de toxinas tetânica e diftérica misturavam-se à água previamente catadinizada, por cêrca de 1 hora. Após 60 minutos de contacto, inoculavamos os animais de prova, que morreram em tempo certo, a partir de 2 D.M.L., tal como os testemunhas inoculados com as diluições correspondentes das toxinas feitas em água não catadinizada.

Não foram feitas experiências com maior tempo de contacto, não se podendo saber, assim, si uma ação mais prolongada da prata teria modificado os resultados.

Venenos — Nas provas feitas com venenos de Jararaca e Cascavel, usando-se técnica semelhante, a desintoxicação não se operou a partir de 2 D.M.L.. Nas doses de 1½ e 1 D.M.L. alguns pombos sobreviveram.

Vê-se, por essas experiências, que tanto as toxinas como os venenos mostraram-se resistentes ao tratamento pela prata ionizada, sendo mínima, talvez, a ação desintoxicante.

Protozoários — Os protozoários, pelo menos aqueles por nós observados (tripanosomas, leishmanias em culturas, ciliados e flagelados das águas), são quasi que imediatamente inativados. Aqui devemos fazer notar que, dada a grande sensibilidade dos tripanosomas e leishmanias às soluções não isotônicas, excluimos essa causa de erro, tornando isotônica a água previamente catadinizada, pela adição da quantidade requerida de sal. Os contrôles mostraram que essa adição de sal à água previamente catadinizada não diminuia de modo nítido e rápido a sua ação bactericida. Nestas condições, a ação da prata sôbre os protozoários fazia-se notar já em poucos minutos, tornando-os imóveis.

Rickettsias — Para as nossas provas da ação da prata sôbre Rickettsias, usamos emulsões de lavaduras e raspagens peritoneais e vaginais de cobaias infetadas pelo virus da febre maculosa. As emulsões, passadas em gaze, misturavam-se em partes iguais à água já catadinizada; ficavam em contacto por 30 minutos e então eram inoculadas em cobaias. Os animais reagiram tipicamente, mostrando-se as Rickettsias, assim, aparentemente resistentes ao método electrocatadínico.

Virus filtráveis — Nestas nossas primeiras experiências com virus filtráveis lançamos mão de uma linfa vacínica, recentemente colhida de vitelo vacinado. Escolhemos a linfa nessas condições, não somente para verificar a resistência que ofereceria o virus vacínico, como, também, pelo fato de, na linfa, o virus estar associado a numerosas bactérias, o que serviria facilmente de contrôle da atividade da água.

Meio grama de polpa vacínica, recentemente raspada de vitelo vacinado, foi emulsionado em 4.5 ml de água tratada. Outro meio grama, misturado com a mesma quantidade de água não tratada, serviu para os contrôles. Após 1 hora de contacto à temperatura ambiente e as emulsões passadas em gaze, foram feitos contrôles bacteriológico e de atividade do virus. Êstes mesmos contrôles foram repetidos depois de períodos de 1, 2 e 3 meses, durante os quais as emulsões permaneceram na geladeira a 0°C.

As provas de vitalidade do virus foram feitas por escarificação da pele de coelhos; os contrôles bacteriológicos foram executados, semeando uma alça do material em tubos de agar simples. No quadro abaixo podem-se ver os resultados:

LINFA VACÍNICA	Ação sôbre	Tempo de ação da prata			
		1 hora	30 dias a 0°C	60 dias a 0°C	90 dias a 0°C
TRATADA	*Virus*, atividade para o coelho	+++	+++	+	—
	Bacterias, aeróbias cultiváveis em agar	—	—	—	—
NÃO TRATADA	*Virus*, atividade para o coelho	+++	+++	+++	+++
	Bacterias, aeróbias cultiváveis em agar	+++	+++	+++	+++

Já 1 hora depois da mistura da linfa com a água contendo ions de prata eletrolisada, os contrôles em agar mostraram-se negativos. Ao contrário, nos contrôles da mistura da linfa com água não tratada, uma cultura espêssa desenvolveu-se na superfície do agar, formada pela confluência de numerosas colônias de bactérias diversas.

Pelos resultados que a tabela revela, vê-se que a ação da prata eletrolisada sôbre o virus vacinico foi relativamente muito fraca, pois, mesmo após 2 meses o virus ainda se mantinha vivo. Com o tempo, também a sua atividade foi desaparecendo, o que indica uma ação da prata sôbre o virus, mas em proporções enormemente inferiores do que sôbre as bactérias.

Esta resistência que o virus vacínico oferece aos ions de prata permite-nos purificá-lo com relativa facilidade. Conhecem-se as dificuldades, até hoje pràticamente ainda não superadas, com que se luta nos laboratórios especializados para a purificação rápida da linfa vacinica, principalmente em certas ocasiões de emergência, como no caso de grandes epidemias, em que se é obrigado a lançar mão até de polpa recém-colhida. Neste particular, muitos métodos têm sido propostos com êsse objetivo, inclusive o de Lemos Monteiro — baseado na filtração do virus — até agora adotado neste Instituto.

Si outros virus oferecerem a mesma resistência à ação da prata elotrolisada, o método eletrocatadinico tomaria grande importância em virulogia e viria resolver um dos problemas que apresenta, por vêzes, grandes dificuldades técni-

cas a transpor, isto é, purificar e quiçá isolar facilmente um virus em material contaminado por bactérias aeróbias.

Bacteriófagos — Já o casal Wollman tinha observado que, sob a ação oligodinâmica da prata, os bacteriófagos mostram-se muito mais resistentes do que as bactérias correspondentes.

Provas que realizamos com bacteriófagos de diferentes bactérias intestinais, diluidos em água préviamente catadinizada, revelaram, confirmando os trabalhos já começados por P. Biocca, terem êles uma resistência notavelmente superior aos germes correspondentes. Nestas nossas experiências, mesmo após contacto de 3 dias com a água catadinizada, os bacteriófagos se mostraram ativos.

RESUMO

Nesta nota prévia mostram-se os resultados de experiências iniciais da ação da prata elotrolizada sôbre certas toxinas, venenos, protozoários, rickettsias, virus filtráveis e bacteriófagos. Afim de evitar uma concomitante ação de cataforese, adotou-se o método de electro-catadinizar préviamente a água antes de misturá-la com o material em estudo. Dada a grande sensibilidade dos tripanosomas e leishmanias às soluções não isotônicas, foi excluida essa causa de erro, tornando isotônica a água previamente catadinizada, pela adição da quantidade requerida de sal. Nestas condições, a ação da prata sôbre os protozoários, fazia-se notar já em poucos minutos, tornando-os imóveis.

As toxinas diftérica e tetânica e os venenos de *Bothrops jararaca* e de *Crotalus terrificus terrificus*, mostraram notável resistência à ação da prata eletrolisada. Uma análoga resistência revelaram as rickettsias da febre maculosa, o virus vacínico e bacteriófagos de bactérias intestinais. O virus vacínico, 2 meses após o tratamento, ainda estava ativo para o coelho. Aproveitando esta resistência e dada a potentíssima ação bactericida da prata eletrolisada, propõe-se empregar o método eletrocatadínico para purificação da linfa vacinica e, quiçá, de outros virus, desde que êles também se mostrem resistentes à ação da prata eletrolisada.

ABSTRACT

In this previous paper the results of initial experiences concerning the action of the electrolyzed silver on certain toxins, venoms, protozoa, rickettsiae, filterable viruses and bacteriophages are reported. In order to avoid a concomittant cataphoretic action, the water was activated with electro-katadyne before

mixing it with the material under study. Owing to the high sensibility of the trypanosomes and leishmania against the non-isotonic solution, this cause of error was excluded by making the previously activated water isotonic by the addition of the required amount of salt. Under these circumstances, the action of the silver on the studied protozoa was noticeable within a few minutes, by their immobilization.

The diphtheric and tetanic toxins, as well as the venoms of *Bothrops jararaca* and *Crotalus terrificus terrificus* showed remarkable resistance against the action of the electrolyzed silver. A similar resistance was noticed with the spotted fever rickettsiae, the vaccine virus and bacteriophages of intestinal bacteria. The vaccine virus proved still active for the rabbit 2 months after the treatment. In view of this resistance and the most powerful bactericide action, the authors suggest the employement of this method for the purification of the vaccine lymph and, perhaps, of other viruses, in case they prove resistant to the action of the electrolyzed silver.

BIBLIOGRAFIA

Krause — *cit. Alessandrini, A. & Labranca, G.* — Ann. Ig. 49:201.1939.
Rainsford, S. G. — J. Hyg. 37:539.1937.
Labranca, G. — Ann. Ig. 49:357.1939.
Alessandrini, A. & Labranca, G. — Ann. Ig. 49:201.1939.
Yaoi, H. & Nakahara, W. — Jap. J. Exp. Med. 12:131.1934.
Wollman, E. & Wollman, Mme E. — C. R. Soc. Biol. 108:111.1931.
Monteiro, J. Lemos — Arch. Hyg. 4(1):67.1930.

(Entregue para publicação em 9-12-42 e dado à publicidade em fevereiro de 1943).

616.01

CARATERIZAÇÃO SOROLÓGICA DOS MENINGOCOCOS

POR

JOSÉ CARLOS RIBAS

HISTÓRICO

Dopter (8) foi o primeiro a iniciar a classificação sorológica dos meningococos quando, em 1909, verificou a existência de amostras de meningococos que não eram aglutinadas por um sôro monovalente e que não se distinguiam dos outros meningococos pelos seus caracteres morfológicos, culturais e bioquímicos.

Inicialmente, Dopter dividiu os meningococos em dois grupos sorológicos: meningococos e parameningococos.

Em 1914, com Pauron (9,10) subdividiu, por meio da saturação das aglutininas, os referidos parameningococos em três subgrupos, reconhecendo a existência de muitas raças de um só e mesmo germe e em cada uma delas um só antígeno.

Vários pesquisadores confirmaram a existência de dois grupos sorológicos distintos de meningococos, entre êles Griffith (15), Scott (23), Ellis (12), Andrewes (1), Arkwright (2), Fildes (13), etc..

Gordon e Murray (14), no decorrer de 1915, empregando a técnica de absorção das aglutininas, subdividiram os dois grupos sorológicos em quatro tipos (I, II, III e IV).

A seguir, em 1918, Nicolle, Debains e Jouan (19), baseados somente na reação de aglutinação, classificaram os meningococos em quatro tipos: A, B, C e D, de acôrdo com a opinião que sustentavam, pois "consideram todo o micróbio não somente como um mosáico de propriedades biológicas, mas ainda como um mosáico de antigenos. A associação destes antígenos caracteriza a espécie e a predominância habitual de um entre os outros o tipo antigênico, ou por outra, a existência de diversos antígenos em cada meningococo".

A opinião acima transcrita está de pleno acôrdo com as observações primitivas de Gruber e Durham (16), em 1896, que ensinaram que a especificidade da reação de aglutinação não era absoluta no sentido biológico. Por exemplo, quan-

do o bacilo coli foi distintamente diferenciado do bacilo tífico e ambos de certos vibriões, êstes vibriões não foram tão claramente distinguidos entre si.

Durham (11), em 1901, como resultado de um estudo mais minucioso destas aglutinações de grupo, enunciou com toda clareza a hipótese de uma multiplicidade de antígenos (um mosáico de antígenos como êle o chamou), dentro de uma só célula bacteriana.

O fato de uma só célula bacteriana conter muitos antígenos foi verificado, portanto, durante os primeiros estudos sôbre a reação de aglutinação e confirmado em nossos dias, tanto por pesquisas biológicas como químicas.

Zozoya (25), em 1931, Miller e Boor (18), em 1934, verificaram serem estas bactérias constituidas por uma mistura em proporções variáveis, de matérias albuminóides, corpos graxos e substâncias glucídicas.

Como vemos, a estrutura antigênica dos meningococos é muito mais complexa do que supunha primitivamente Dopter, como ficou demonstrado nos trabalhos de Rake e Scherp (21,22), feitos em 1933.

Cada amostra de meningococo contem vários componentes antigênicos em diversas proporções, uma verdadeira miscelânia de antígenos e um pequeno excesso de um dêles, o qual vai caracterizar o tipo antigênico.

A classificação de Gordon e Murray, geralmente aceita entre nós, baseada na técnica de absorção das aglutininas, é laboriosa, muito sujeita a erros e enganos e requer anti-soros feitos com amostras cuidadosamente escolhidas.

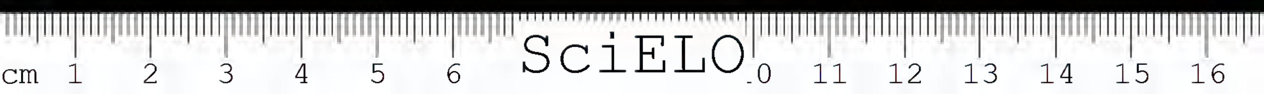
Como assinalou Fildes (13) "os tipos I e III e os tipos II e IV de Gordon e Murray estão tão estreitamente relacionados, que de uma mudança nos padrões pode resultar uma mudança de tipo. A classificação dos meningococos é real e não depende de uma seleção arbitrária de padrões. Mas a seleção de padrões para determinação dos subtipos é arbitrária e pode levar a muita confusão si um mesmo padrão não for mantido".

Na Alemanha, vários pesquisadores, entre os quais Jötten, Kortmann (17), afirmam que as amostras de meningococos apresentam características sorológicas variáveis de uma região para outra, não havendo homogeneidade de resultados. Classificam suas amostras em sete tipos, sem correlação alguma com os tipos francêses ou inglêses.

* * *

As primeiras verificações sorológicas sôbre os meningococos em São Paulo foram feitas em 1923 por Assunção (5), no Instituto Butantan, utilizando anti-sôros francêses e achando, em 33 amostras experimentadas, 30 do tipo A e 3 do tipo B.

Prosseguindo em tais estudos, Assunção (6) examinou mais 54 amostras isoladas no decorrer dos anos de 1924, 1925 e 1926, em relação a anti-sôros ame-



ricanos, constatando-se que nem todas as amostras eram aglutináveis, sendo encontrado predominio do grupo I (tipo I e tipo III), do tipo I (53%); tipo II (7,4%); tipo III (20%) e amostras não aglutináveis (18,5%).

Assis (3), em 1924, no Instituto Vital Brazil, em Niterói, examina 20 amostras de meningococos, sendo 10 de São Paulo, utilizando sôros aglutinantes fornecidos pelo Instituto Pasteur de Paris, verificando a seguinte porcentagem, tipo A (95%) e tipo B (5%). Notando ainda, que a temperatura de 55°C não convem a esta experimentação.

No Instituto Butantan, em 1929-30, Travassos (24) estuda 50 amostras de meningococos, empregando anti-sôros americanos, francêses e nacionais e chega às seguintes conclusões: "um grupo I (26%) correspondente aos tipos I americano e A francês, um tipo II (30%) pouco influenciado pelo anti-sôro II americano e um tipo III (12%) correspondente ao tipo C francês. Dentro do grupo I foram encontrados 2 subtipos: Ia (18%) e Ib (6%), o primeiro é superponivel ao tipo III americano e o segundo diferencia-se dêste pela prova de absorção das aglutininas. Quatro amostras comportaram-se irregularmente (8%), uma dentro do grupo I e 3 dentro do grupo II".

MATERIAL

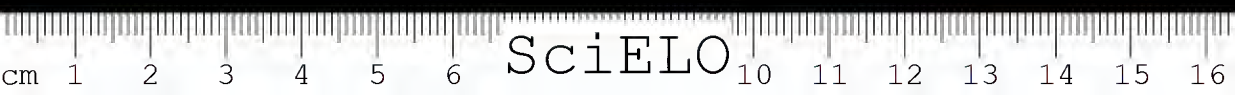
A constituição antigênica dos meningococos é uma questão de máxima importância prática por estar diretamente relacionada à produção do sôro anti-meningocócico terapêutico e influir seguramente nos resultados de seu emprêgo.

Tal circunstância nos levou a estudar a caracterização sorológica das amostras com que trabalhamos na ocasião. Nesse estudo empregamos sôros aglutinantes preparados com amostras padrões da classificação de Gordon e Murray, respectivamente: tipo I — No. 331, tipo II — No. 173, tipo III — No. 302 e tipo IV — No 158 (*), recebidas dos Estados Unidos, onde correntemente são usadas como antigenos, segundo Zinsser e Bayne-Jones (26), em provas dessa natureza.

Preparo dos sôros aglutinantes. Com as citadas amostras padrões foram imunizados quatro cavalos, uma para cada tipo, afim de obtermos sôros monovalentes; escolhemos para êsse fim cavalos normais, tendo o cuidado de verificar que seus sôros se mostravam capazes de aglutinar as diferentes amostras antes de iniciarmos as inoculações.

(*) As amostras acima foram enviadas por intermédio da Dra. Sarah Brahan, do Public Health Service, Washington, D.C., e recebidas em Butantan pelo Dr. B. M. Mourão, a quem somos grato.

3



Cada cavalo recebeu, por via venosa, com sete dias de intervalo, oito doses que variaram progressivamente de 10 e 2.000 bilhões, num total de um trilhão de meningococos vivos, cultura de 24 horas, do tipo padrão correspondente.

As emulsões foram uniformes, todos tendo recebido idênticas séries de doses, com o mesmo intervalo de tempo. Preparamos, assim, sôros com títulos aglutinantes aproximadamente iguais, propositalmente não muito elevados para evitar o mais possível as coaglutininas em títulos elevados.

PROTOCOLOS

Título aglutinante do sôro do cavalo 25, imunizado com a amostra padrão tipo I — No. 331, em relação à amostra homóloga (tipo I — No. 331) e as heterólogas (tipo II — No. 173, tipo III — No. 302 e tipo IV — No. 158):

Sôros tipos	TITULOS 1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	Tes.
I	4	4	4	4	4	4	0
II	4	4	4	0	0	0	
III	4	4	4	4	0	0	
IV	4	4	4	0	0	0	

Título aglutinante do sôro do cavalo 24b, imunizado com a amostra padrão tipo II — No. 173, em relação à amostra homóloga (tipo II — No. 173) e as heterólogas (tipo I — 331, tipo III — No. 302 e tipo IV — No. 158):

Sôros tipos	TITULOS 1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	Test
I	4	4	4	4	0	0	0
II	4	4	4	4	4	4	
III	4	4	4	0	0	0	
IV	4	4	4	0	0	0	

Título aglutinante do sôro cavalo 26, imunizado com a amostra padrão tipo III — No. 302, em relação à amostra homóloga (tipo III — No. 302) e as heterólogas (tipo I — No. 331, tipo II — No. 173 e tipo IV — No. 158):

Sôros tipos	TITULOS 1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	Test
I	0	0	0	0	0	0	0
II	4	0	0	0	0	0	
III	4	4	4	4	4	4	
IV	4	4	4	4	0	0	

Título aglutinante do sôro do cavalo 20b, imunizado com a amostra padrão tipo IV — No. 158, em relação à amostra homóloga (tipo IV — No. 158) e as heterólogas (tipo I — No. 331, tipo II — No. 173 e tipo II — No. 302):

Sôros tipos	TITULOS 1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	Test
I	0	0	0	0	0	0	0
II	4	0	0	0	0	0	
III	4	4	4	4	0	0	
IV	4	4	4	4	4	4	

Afim de controlar de certo modo os nossos sôros e verificar ainda a correlação existente entre os tipos da classificação de Gordon e Murray e os tipos da classificação de Nicolle, Dubains e Jouan, as duas mais conhecidas e as únicas aceitas, procedemos à aglutinação das amostras A, B e C da classificação francêsa (*), em relação aos sôros por nós preparados; cujos resultados são os seguintes:

Com o meningococo, tipo A francês:

Sôros tipos	TITULOS 1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	Test
I	4	4	4	4	4	0
II	4	4	4	0	0	
III	4	4	4	4	0	
IV	4	0	0	0	0	

Com o meningococo, tipo B francês:

Sôros tipos	TITULOS 1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	Test
I	4	4	0	0	0	0
II	4	4	4	3	2	
III	4	2	0	0	0	
IV	4	4	2	0	0	

Com o meningococo, tipo C francês:

Sôros tipos	TITULOS 1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	Test
I	4	4	4	0	0	0
II	0	0	0	0	0	
III	4	4	4	4	4	
IV	0	0	0	0	0	

(*) As amostras tipos A, B e C francêsas devemos à gentileza do Dr. Vital Brazil, a quem muito agradecemos.

Segundo os protocolos existe de fato uma pequena predominância de um dos antígenos em relação aos demais, o que deve caracterizar o tipo antigênico, e uma estreita correlação entre os tipos I e A, II e B, III e C.

As duas primeiras correlações são por demais conhecidas e a correlação existente entre os tipos III e C já se verifica nos trabalhos de Assis (4) e Travassos.

TÉCNICA

Todas as amostras de meningococos do presente trabalho foram recebidas do Instituto Adolfo Lutz, isoladas de líquido céfalo-raquidiano de doentes internados no Hospital Emílio Ribas.

Foram identificadas bioquimicamente, usando-se para tanto glicose, levulose e maltose.

Para as aglutinações usamos correntemente culturas em agar de Truche, meio recomendado por Nicolle (19) ou em agar glicosado a 5%, com peptona Evans, pH 7.6, crescidas 24 horas a 37°C.

Previamente retiramos a água de condensação dos tubos, adicionamos pequena quantidade de salina e abandonamos em repouso durante cêrca de 10 minutos, tempo necessário ao desprendimento dos germes, rotamos com delicadeza os tubos, obtendo, assim, uma emulsão regular, a seguir filtrada em gase, para reter pequenos grumos.

Finalmente, deixamos cair salina em quantidade suficiente para igualar em opacidade o No. 3 do nefelómetro de McFarland, correspondendo a 900 milhões de meningococos, suspensão bastante fraca, mas de maior conveniência.

A técnica de que nos servimos foi a seguinte: as aglutinações foram sempre realizadas à temperatura de 37°C., em banho-maria, durante duas horas, permanecendo o tempo restante na "frigidaire" a 4° acima de zero, sendo realizada a leitura no dia imediato.

Demos preferência a esta técnica porque, segundo Pittmann e outros (20), a incubação a 56°C. durante 18 horas é inespecífica e a aglutinação a 37°C. é específica e a que mantem mais estreita relação com a prova de proteção em camondongos e a produção de halo.

A revisão bibliográfica que tivemos oportunidade de realizar e a própria experiência decorrente dêstes trabalhos, levou-nos à conclusão de que os anti-sôros monovalentes — preparados indiferentemente em cavalos ou coelhos — nunca são estritamente específicos, isto é, todos os anti-sôros monovalentes apresentam aglutininas ou coaglutininas para os tipos heterólogos —uns mais do que outros — ao lado das aglutininas especificas. Empregada a técnica de absorção de aglutininas, verifica-se que é frequente a absorção não só das coaglutininas,

oomo também das aglutininas específicas, o que nos levou a dispensar o emprêgo desta última técnica, que neste grupo de germes poderia mesmo levar a grandes confusões, segundo já o fez vêr Fildes (13).

IDENTIFICAÇÃO

Com sôros assim controlados, realizamos provas sorológicas para classificação de uma primeira série de 27 meningococos todos isolados de líquido céfalo-raquidiano de doentes, cujos números figuram na relação abaixo, internados no Hospital Emilio Ribas, do Estado de São Paulo, durante o ano de 1939.

Tipo I	Tipo II	Tipo III	Tipo IV
199	207	201	194
225	82	290	947
548	87	652	
1002	142	685	
181	301		
186	306		
676	686		
763	816		
	922		
	940		
	164		
	191		
	296		
8 (29.6%)	13 (48%)	4 (14.8%)	2 (7.4%)

Foram, portanto, classificados no grupo I (tipos I e III):

12 amostras de meningococos (44.4%).

Classificados no grupo II (tipos II e IV):

15 amostras de meningococos (55.5%).

Com os mesmos sôros aglutinantes verificamos uma segunda série de 33 meningococos, todos isolados do liquido céfalo-raquidiano de doentes internados no Hospital Emilio Ribas durante os anos de 1940, 1941 e 1942.

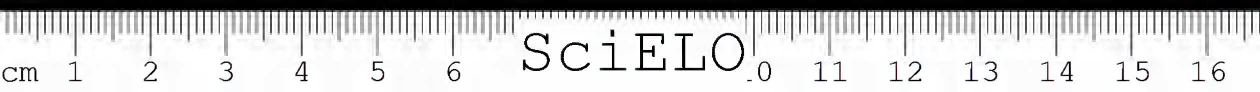
Apresentamos um protocolo bastante minucioso das aglutinações realizadas, onde se poderão apreciar detalhadamente diversos aspectos: amostras mais e menos aglutináveis, predominância de certos aglutinógenos e ausência de outros.

PROTOCOLOS

		TITULOS						
	Anti-sôros	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	Test	Tipos
Doente	I	3	3	3	2	0	0	
No. 131	II	4	4	4	4	4		II
7-6-40	III	3	1	0	0	0		
	IV	1	0	0	0	0		
Doente	I	4	3	3	0	0	0	
No. 154	II	4	4	4	4	4		II
24-6-40	III	1	0	0	0	0		
	IV	2	0	0	0	0		
Doente	I	4	4	3	3	0	0	
No. 216	II	4	2	0	0	0		
7-8-40	III	4	3	2	2	0		
	IV	4	4	4	4	4		IV
Doente	I	4	4	4	3	0	0	
No. 276	II	4	4	4	4	4		II
11-9-40	III	1	0	0	0	0		
	IV	4	4	3	2	0		
Doente	I	4	4	4	3	2	0	I
No. 332	II	4	4	4	1	0		
26-10-40	III	2	1	1	0	0		
	IV	2	2	1	0	0		
Doente	I	4	3	1	1	0	0	
No. 335	II	4	4	4	2	1		
29-10-40	III	2	0	0	0	0		
	IV	4	4	4	4	4		IV
Doente	I	4	3	3	2	0	0	
No. 200	II	4	4	4	4	4		II
28-12-40	III	1	0	0	0	0		
	IV	1	0	0	0	0		
Doente	I	4	4	4	0	0	0	
No. 156	II	4	4	4	4	4		II
15-3-41	III	0	0	0	0	0		
	IV	4	3	0	0	0		
Doente	I	4	4	4	2	0	0	
No. 222	II	4	4	4	4	3		II
27-6-41	III	2	2	0	0	0		
	IV	4	4	2	2	0		

	Anti-sôros	TITULOS 1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	Test	Tipos
Doente	I	4	4	4	0	0	0	
No. 49	II	4	4	4	3	2		II
25-5-41	III	1	0	0	0	0		
	IV	4	3	1	0	0		
Doente	I	4	4	4	4	3	0	I
No. 304	II	4	4	4	0	0		
14-7-41	III	2	2	2	2	0		
	IV	0	0	0	0	0		
Doente	I	4	4	4	0	0	0	
No. 309	II	4	4	4	4	4		II
20-7-41	III	1	1	0	0	0		
	IV	1	1	1	0	0		
Doente	I	4	3	3	0	0	0	
No. 822	II	4	4	4	4	4		II
21-7-41	III	1	1	0	0	0		
	IV	2	2	0	0	0		
Doente	I	4	3	0	0	0		
No. 317	II	4	3	0	0	0		
25-7-41	III	2	1	0	0	0	0	
	IV	4	4	3	2	1		IV
Doente	I	4	4	4	4	4	0	I
No. 316	II	4	4	4	4	3		
25-7-41	III	2	1	0	0	0		
	IV	2	2	1	0	0		
Doente	I	4	4	4	3	0	0	
No. 330	II	4	4	4	4	4		II
13-8-41	III	2	1	0	0	0		
	IV	3	2	2	2	0		
Doente	I	0	0	0	0	0	0	
No. 420	II	4	4	2	0	0		
5-11-41	III	4	4	4	0	0		
	IV	4	4	4	4	4		IV
Doente	I	4	2	1	0	0	0	
No. 396	II	4	0	0	0	0		
5-9-41	III	4	4	4	4	4		III
	IV	0	0	0	0	0		
Doente	I	4	4	4	4	4	0	I
No. 370	II	4	4	4	4	0		
16-9-41	III	2	1	0	0	0		
	IV	0	0	0	0	0		

	Anti-sôros	TITULOS 1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	Test	Tipos
Doente	I	4	4	1	1	0		
No. 395	II	4	3	1	0	0		
8-10-41	III	4	4	4	4	4		III
	IV	4	4	0	0	0		
Doente	I	4	4	4	0	0	0	
No. 437	II	4	4	4	4	0		
10-9-41	III	4	4	4	4	4		III
	IV	4	4	4	4	0		
Doente	I	4	0	0	0	0	0	
No. 403	II	4	4	4	0	0		
18-10-41	III	4	4	4	4	4		III
	IV	4	0	0	0	0		
Doente	I	4	4	4	4	2	0	I
Ruth	II	4	4	4	4	0		
10-1-42	III	4	1	0	0	0		
	IV	3	1	0	0	0		
Doente	I	1	1	0	0	0	0	
Antonieta	II	1	0	0	0	0		
13-1-42	III	4	4	4	0	0		III
	IV	4	0	0	0	0		
Doente	I	4	4	4	4	0	0	
No. 11	II	4	4	4	4	4		II
13-1-42	III	0	0	0	0	0		
	IV	4	4	4	0	0		
Doente	I	2	0	0	0	0	0	
No. 73	II	4	4	4	4	4		II
11-2-42	III	0	0	0	0	0		
	IV	4	2	0	0	0		
Doente	I	4	0	0	0	0		
No. 85	II	4	4	0	0	0	0	
23-2-42	III	4	0	0	0	0		II
	IV	1	0	0	0	0		
Doente	I	2	1	0	0	0	0	
No. 86	II	2	0	0	0	0		
24-2-42	III	4	4	4	4	0		
	IV	4	4	4	4	4		IV
Doente	I	2	2	2	0	0	0	
No. 112	II	2	2	2	2	0		
29-4-42	III	4	4	4	4	4		III
	IV	4	4	4	4	0		



	Anti-sôros	TITULOS 1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	Test	Tipos
Doente	I	0	0	0	0	0	0	
No. 130	II	4	2	1	0	0		
28-5-42	III	4	4	4	4	4		III
	IV	4	4	0	0	0		
Doente	I	4	1	0	0	0	0	
No. 132	II	4	4	4	4	1		II
2-6-42	III	4	1	0	0	0		
	IV	4	1	0	0	0		
Doente	I	4	0	0	0	0	0	
No. 811	II	4	4	4	4	4		II
	III	4	4	0	0	0		
	II	4	4	4	0	0		
Doente	I	4	4	4	4	3	0	I
No. 227	II	4	4	4	4	0		
	III	4	3	2	1	1		
	IV	4	0	0	0	0		

RESUMO

Tipo I	Tipo II	Tipo III	Tipo IV
332	131	396	216
304	154	395	335
316	276	437	317
370	200	Antonieta	420
403	156	112	86
Ruth	222	130	
227	49		
	309		
	822		
	330		
	11		
	73		
	85		
	132		
	811		
7 (24.2 %)	15 (45.4 %)	6 (18 %)	5 (15 %)

Foram, portanto, classificadas no grupo I (tipos I e III):
13 amostras de meningococo (39.3%).

Classificadas no grupo II (tipos II e IV):
20 amostras de meningococo (60.6%).

Como demonstram os protocolos, desde o início de nossas verificações — de meados de 1939 até esta data — encontramos sempre uma predominância de meningococos pertencentes ao grupo II, isto é, aos tipos II e IV.

As conhecidas diferenças imunológicas do grupo II, principalmente devidas à sua pobreza antigênica, nos levaram sempre a preparar no Instituto Butantan um sôro anti-meningocócico terapêutico polivalente, usando correntemente como antígeno amostras recentemente isoladas desse grupo, nas devidas proporções.

Ainda em 1940, Cohen (7) faz um interessante estudo de 35 amostras do grupo II, procurando resolver o problema da produção do sôro terapêutico de maior atividade e de poder mais elevado para amostrar dêste grupo, evidenciando tipos imunológicos nitidamente distintos.

A necessidade de serem utilizadas, como antigeno, amostras locais, recém-isoladas é aconselhada por Belfanti (27) desde 1917.

Cantacuzène (28), em 1931 e 1933, e Nicolau (29), em 1936, reviram o assunto e não só confirmaram aquela necessidade, como aconselharam ainda a renovação perpétua das amostras empregadas no preparo do sôro terapêutico.

Jöten e Kortmann (17), por sua vez, verificaram que os meningococos perdem as suas propriedades antigênicas iniciais pelo envelhecimento nos meios de cultura.

CONCLUSÕES

1. Trabalhando com 60 amostras de meningococos isolados de liquido céfalo-raquidiano e identificadas por provas bioquímicas, foram encontrados, por prova de aglutinação levada a efeito em banho-maria a 37°C por duas horas, os seguintes tipos: tipo I: 15 amostras (25%); tipo II: 39 amostras (63%) tipo III: 10 amostras (16.6%); tipo IV: 7 amostras (11.6%).

2. Como consequência dessa verificação são utilizadas, como antígeno, nas imunizações para preparo do sôro polivalente terapêutico, emulsões de meningococos vivos e recentemente isolados, em que predominam as amostras do tipo II e dos restantes tipos nas proporções em que são encontradas.

CONCLUSIONS

1. Working with 60 strains of meningococci isolated from the cephalo-rachidian liquid and identified by biochemical tests, the following tipes were found by agglutination test cared on in waterbath at 37°C. during 2 hours: type I: 15 strains (25%); type II: 38 strains (63%); type III: 10 strains (16.6%); type IV: 7 strains (11.6%).

2. Consequently to this statement, in the immunizations for the preparation of the polyvalent therapeutic serum, emulsions of living and recently isolated meningococci in which the strains of type II predominate and of other types in the proportions in which they are found, are employed as antigen.

BIBLIOGRAFIA

1. *Andrewes, F. W.* — A consideration of recent serological work on the meningococcus — Lancet 193: 847.1917.
2. *Arkwright, J. A.* — Grouping of the strains of meningococcus isolated during the epidemic of cerebrospinal meningitis in 1915 — Brit. Med. Jl. 2: 885.1915.
3. *Assis, A.* — Da classificação de meningococos — Arqus. Inst. Vital Brazil 2(1): 41.1924.
4. *Assis, A.; Mendes, D. & Moura, N.* — Para a casuística das meningococias entre nós — meningite meningocócica do tipo C — Ciência Médica 5(8): 433.1927.
5. *Assunção, L.* — Tipos de meningococos e o problema da soroterapia anti-meningocócica entre nós — Colet. Trab. Inst. Butantan 2: 265, 381.1918-24.
6. *Assunção, L.* — Contribuição ao estudo dos tipos de meningococos encontrados no Brasil — Mem. Inst. Butantan 3: 143.1926.
7. *Cohen, S. M.* — Serological and immunological studies of group II meningococcus trains — J. Bact. 39(1): 89.1940.
8. *Dopter, C.* — Etude de quelques germes isólés durhinopharynx, voisins du méningocoque (paraméningocoques) — C. R. Soc. Biol. 67: 74.1909.
9. *Dopter, C. & Pauron* — La saturation des aglutinines et des précipitines appliquée a la différenciation du méningocoque et des parameningocoques — C. R. Soc. Biol. 77: 157.1914.
10. *Dopter, C. & Pouron* — Différenciation des paraméningocoques entre eux par la saturation des agglutinines — C. R. Soc. Biol. 77: 231.-914.
11. *Durhom, H. E.* — Some theoretical considerations upon the nature of agglutinines — J. Exp. Med. 5:353.1901.
12. *Ellis, A. W. M.* — A classification of meningococci based on group agglutination obtained with monovalent immune rabbit serums — Brit. Med. J 2. 881.1915.
13 *Fildes, P.* — The serological classification of meningococci — Brit J Exp. Patl. 1: 44.1920.
14. *Gordon, M. H. & Murroy, E. G.* — Identification of the meningococcus — J. Royal Army Med. Corps. 25: 411.1915.
15. *Griffith, F.* — Second report on the identification of the menincococcus in the nasopharyns, with special reference to serological reactions — J. Hyg. 17: 124.1918
16. *Gruber, M. & Durham, H. E.* — Münch. med. Wschr. 43:285.1896.
17. *Jötten, K. W. & Kortmann, T.* — Über Meningokokkentypen — Ztschr. f. Immunitätsforschung 54: 290. *et* 59: 129.1928.
18 *Miller, P. & Boor, A.* — The carbohydrates of gonococcus and meningococcus — J. Exp. Med. 59:75.1934.
19. *Nicolle, M.; Debains, E. & Jouan, C.* — Études sur les méningocoques et les sérums antiméningococciques — Ann. Inst. Pasteur 32: 150.1918.
20. *Pittmann, M.; Brohon, S. E. & Sockrider, E. M.* — A comparison of the precipitation reaction in immune serum agar plates with the protection of mice by antimeningococcus serum — U. S. Public Health Reports 53: 1400.1938.

21. *Rake, G. & Scherp, H.* — Studies on meningococcus infection. The antigenic complex of the menincoccus a type-specific substance — J. Exp. Med. **58**: 341.1933.

22. *Rake, G. & Scherp, H.* — The antigenic complex of the meningococcus group-specific carbohydrate and protein fraction — J. Exp. Med. **58**:361.1933.

23. *Scott, W. M.* — A further study of the serological reactions of meningococci from the spinal fluid and the naso-pharynx, with special reference to their classification and to the occurrence of the latter among normal persons — J. Hyg. **17**:191.1918.

24. *Travassos, J.* — Contribuição oa estudo da meningite cérebro-espinhal epidêmica em São Paulo, á luz do comportamento sorológico dos diferentes tipos de meningococos — Arch. Soc. Biol. (Montevideo) **6**: 1549.1930.

25. *Zozaya, J.* — A Serological study of the polysaccharides of meningococcus, B. anthraxis, B. subtilis and B. mesentericus — J. Exp. Med. **54**:725.1931.

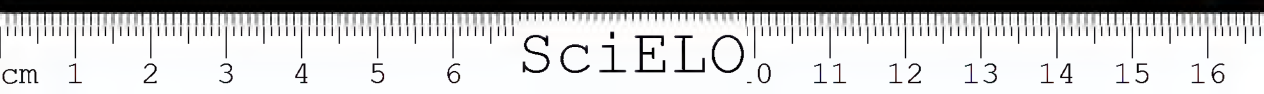
26. *Zinsser, H. & Bayne-Jones, S.* — A textbook of bacteriology — 8th edition, p. 388.

27. *Belfanti, S.* — Intorno alla preparazione ed al dossaggio del siero contro la meningite cerebrospinale da meningococco — Bol. Ist. Sierot. Milanese **1**: 11.1917/20.

28. *Cantacuzène, J.* — Sur les résultats de la sérothérapie antiméningococcique en Roumanie — Off. Intern. Hyg. Publ. **23**: 658.1931 *et* **25**: 1216.1933.

29. *Nicolau, I.* — Traitement sérothérapique de la méningite cérébrospinale épidémique en Roumanie — Arch. Roum. Path. Exp. et Microb. **9**: 379.1936.

(Trabalho da Seção de Bacteriologia: Peste e Cocos Gram-negativos do Instituto Butantan. Entregue para publicação em setembro de 1942 e dado à publicidade em fevereiro de 1943).



614.542:616.246

TIPOS DE BACILO DE KOCH NA TUBERCULOSE PULMONAR HUMANA (*)

POR

PLINIO MARTINS RODRIGUES

Desde a célebre declaração de Koch, por ocasião do Congresso Britânico de Tuberculose, reunido em Londres, em 1901, pela qual afirmava o grande experimentador ser a raça bovina do bacilo da tuberculose destituida de poder patogênico para o homem, esforçaram-se os pesquisadores nas diversas partes do mundo, dada a enorme importância prática da controvérsia imediatamente suscitada a respeito, para determinar o tipo do germe nas mais variadas formas da infeção humana.

Ainda em 1908, era um dos principais argumentos de Koch, em apoio da sua opinião, o fato de que, até então, não havia sido comprovada de modo cabal a responsabilidade etiológica da raça bovina, em caso algum da mais importante das formas de tuberculose humana, a tísica pulmonar.

As pesquisas de A. A. Griffith, membro da "Royal Commission" nomeada pelo govêrno inglês para esclarecer o assunto, vieram tirar ao argumento de Koch o seu carater absoluto, conseguindo aquele experimentador, dentre 29 caso de tuberculose pulmonar, isolar repetidas vezes de dois pacientes a raça bovina, não sendo encontrada a raça humana.

Em breves anos, graças principalmente às pesquisas levadas a efeito na Inglaterra e Escócia, ficava demonstrado, de maneira definitiva, que a raça bovina do bacilo de Koch tinha uma parte sensivel de responsabilidade na etiologia de quasi todas as formas de tuberculose humana.

Mas ainda em 1922, isto é "treze anos depois que os primeiros casos inglêses tinham sido descobertos", somente "quatro casos de tuberculose pulmonar atribuiveis a bacilos de tipo bovino tinham sido relatados, na Grã-Bretanha, e poucos casos duvidosos de infeção mista com bacilos de tipo humano e bovino, no Continente" (1).

(*) Agradecemos à Sra. Minnie P. Weiser o auxilio prestado durante a execução da parte técnica dêste trabalho.

Já, em 1930 (2), porém, tinha sido comprovada, na Escócia, a presença da raça bovina de bacilo em treze doentes de tuberculose pulmonar, ao passo que na mesma época, no mundo inteiro, com exceção da Grã-Bretanha, já 926 casos da mesma enfermidade tinham sido investigados quanto à sua etiologia, e, somente em tres, foram encontrados bacilos de raça bovina, sendo que dois dêles eram de infeção mista com a raça humana (3).

Dez anos mais tarde, os resultados das pesquisas inglêsas já eram suficientes para dar uma idéia aproximada da incidência, na Escócia, do tipo bovino de bacilos no escarro de doentes de tuberculose pulmonar: 6%, em 515 casos de Griffith, e 5%, em 1170 casos de Munro (1), relativos todos ao centro e sul e 9,1%, em 342 casos de Griffith e Smith (4), relativos ao nordeste daquele país.

Beattie e Nicewongen (5), como resumo da leitura de aproximadamente cem trabalhos da literatura especializada, publicaram algarismos relativos à frequência do bacilo bovino no escarro, em várias partes do mundo. Para a Escócia, os dados encontrados, nos quais devem estar naturalmente incluidos os acima citados, foram: 5% entre 1934 casos examinados. Para a Inglaterra, que, com a Escócia, constitue a região do mundo onde mais tem sido estudada a questão da tuberculose humana de origem bovina, a incidência achada foi de 2% entre 2.630 raças isoladas.

Resultado interessante dessa revisão de literatura é a constatação de frequência, na Dinamarca, mais elevada ainda que na Escócia: 6,1% entre 1975 raças examinadas. Porcentagem mais elevada que esta, só conhecemos a citada por B. Lange (3): 11,2%, mas relativa a número (89) bem menor de casos examinados em cidade holandesa (?), isso si desprezarmos outros dados, mencionados ainda por êste último autor, por serem escassos demais (8 raças das quais 2 bovinas). Quanto à Alemanha, a frequência encontrada pelos autores americanos na revisão de literatura citada foi 3,4%, relativa ao total de 561 amostras identificadas, enquanto Lange (3) calcula ser de 1% a incidência provavel nesse país. Nos Estados Unidos, na Irlanda e na França não foi encontrada, entre centenas de casos examinados, nenhuma raça bovina, igualmente ausente no material examinado no Canadá, na Austrália e em Trindade, em dezenas de casos.

Dos pesquisadores nacionais, só Rosemberg (16), ao que sabemos, refere ter isolado de escarro o bacilo de tipo bovino. Foi examinado material vário (escarro, líquido de lavagem gástrica, etc.) proveniente de 58 tuberculosos. Em tres casos de tuberculose pulmonar foi isolado do escarro o bacilo bovino. O autor do trabalho não especifica, porém, em quantos dos 58 casos foi o escarro o material examinado.

Sendo o conhecimento da incidência do tipo bovino de bacilo na tísica pulmonar humana de interesse para a solução do problema da tuberculose, sob múl-

tiplos aspectos, profilático, epidemiológico, econômico, etc., iniciámos ha dois anos pesquisa a respeito, em nosso meio. Publicamos agora os primeiros resultados dêsse trabalho.

MATERIAL E MÉTODO

Foram realizadas culturas com escarro de 132 doentes de tuberculose pulmonar, todos adultos em tratamento no Hospital S. Luiz de Gonzaga, de Jaçanã, S. Paulo (*).

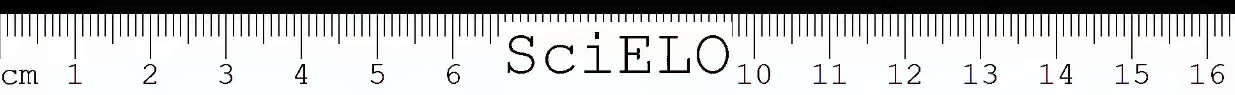
A pesquisa bacterioscópica prévia revelou em todos a presença de bacilos alcool-ácido-resistentes. O meio de cultura empregado foi o de Petragnani com verde malaquita (6). Para cada caso, durante todo o decorrer da pesquisa, foram utilizados, para a cultura inicial, tres tubos de Petragnani com e tres sem glicerina; além dêsses meios, foram empregados no início do trabalho, para o isolamento, meios de Dorset e Lubenau, a seguir abandonados para a cultura inicial devido à elevada porcentagem de contaminação, apesar do tratamento prévio do escarro. Para êste tratamento foi empregada a técnica simplificada de Griffith (1): junção ao escarro de volume igual de uma solução de KOH a 4%, sendo a mistura, a seguir, bem agitada e colocada em estufa a 37° por ½-¾ hs. No fim dêsse tempo, eram semeadas com pipeta uma ou duas pequenas gotas da mistura bem fluidificada e *não neutralizada*.

Uma vez observados o crescimento eugônico das culturas e a ação favoravel exercida sôbre o mesmo pela glicerina, eram elas repicadas a partir sempre de meios sem glicerina e, às vezes, também de meios glicerinados, para novos tubos de Petragnani com e sem glicerina e para batata glicerinada, além de, ocasionalmente, para meio de Bordet-Gengou, Löwenstein, caldo glicerinado, Sauton, etc.. O diagnóstico das raças humanas eugônicas foi feito sempre facilmente por processo cultural, tendo sido apenas necessário repetir repiques ocasionalmente negativos para dissipar toda e qualquer dúvida.

Com as amostras que se comportaram de modo disgônico quanto ao aspecto geral do seu crescimento, foram realizadas sub-culturas com a técnica habitual e com técnica apropriada à obtenção de colônias isoladas (7) e foram injetados coelhos nas doses de 10 mgs, subcutaneamente, e, na veia, 0.01 mg e, ocasionalmente, 0,1 e mesmo 1 mg.

Inoculámos numerosas cobaias, diretamente com escarro, subcutaneamente, após tratamento com NaOH e neutralização subsequente com H^2SO^4, assim como com culturas, para verificação não só da virulência da raça como de suas caraterísticas culturais, após passagem em animal.

(*) Deixamos aqui consignados os nossos agradecimentos ao prof. Moacyr de Freitas Amorim, chefe do laboratorio do Hospital S. Luiz de Gonzaga, pelas facilidades que aí nos foram concedidas.



— RESULTADOS —

De cada um dos 132 doentes cujo escarro foi semeado, foi obtida cultura de bacilo de Koch. Em vinte casos, foi o germe isolado mais de uma vez de material do mesmo paciente, tendo sido o diagnóstico de tipo confirmado em todas as repetições.

As raças correspondentes a 126 dêsses doentes pertenciam ao tipo humano eugônico. Não foi encontrada nenhuma raça bovina. As amostras obtidas dos seis pacientes restantes eram do bacilo humano disgônico, tendo sido, em tres dêsses casos, obtida cultura em dois exames sucessivos, em dois outros em tres ocasiões diversas e no restante em quatro.

Em um dêsses casos, o intervalo máximo com que foram examinadas duas amostras sucessivas de escarro chegou a ano e meio; nos outros, foi, respectivamente de 9½, 3½, 2, 2 mêses e, finalmente, apenas alguns dias. A persistência dos caracteres culturais do bacilo humano disgônico, após periodos vários de desenvolvimento dêste "*in vivo*" — verificada assim, em vários casos, em exame de diversas amostras de material proveniente de um mesmo paciente — parece encontrar confirmação no fato do parentesco de pai a filho de dois dos pacientes incluidos no grupo dêsses seis casos, pois é provavel pelo inquérito realizado que um dêles, o pai, tenha sido a fonte de contaminação do outro.

Em regra, o crescimento, em Petragnani glicerinado, das amostras pertencentes a êsses seis casos, foi sempre muito mais abundante do que no mesmo meio sem glicerina, chegando a formar, em sub-cultura, ou mesmo em cultura inicial, camada tres ou quatro vezes mais espessa no primeiro do que no segundo. No entanto, êsse crescimento, em cultura inicial, não adquiriu nunca, em seu conjunto, o aspecto rugoso, nem a exuberância do da raça eugônica típica (Foto 1), e, mesmo em sub-cultura, diferenciava-se êle nitidamente, de regra, do de uma cultura eugônica (Foto 2); quando formando camada uniforme (Foto 3, lado esquerdo), era, por vezes, quasi indistinguivel do da raça bovina em sub-cultura em Petragnani, quanto ao seu aspecto liso e uniforme, sendo, no entanto, mais abundante do que o desta.

A hipótese de se tratar de raças bovinas para as quais não se verifica o poder inibidor (8), característico da glicerina sôbre o crescimento, póde, contudo, ser afastada, já pelo estudo cultural, vindo as inoculações em animais confirmar o diagnóstico de raças humanas disgônicas.

De fato, quando observadas isoladamente, em culturas iniciais ou em sub-culturas obtidas com técnica apropriada, as colônias pertencentes a essas raças disgônicas apresentavam, em sua grande maioria, aspecto bem distinto do das colônias típicas de bacilo bovino, abobadadas e de superfície perfeitamente lisa e espelhada. Desde algumas colônias, perfeitamente iguais às da raça humana eugô-

nica típica, bem rugosas e bem crescidas, observava-se transição gradual para outras — as mais numerosas — mais disgônicas e menos rugosas (Foto 4), até se obter, em raros casos (Fotos 5 e 11), colônias de aspecto bem semelhante ao das de tipo bovino. Se observadas separadamente e a olho nú, tais colônias poderiam talvez ser consideradas como pertencentes a êste tipo mas, estudadas em conjunto com as restantes, via-se muitas vezes de maneira nítida que elas não representavam senão um grau avançado na transição "rugoso-liso", sendo sempre possivel, com uma lupa, perceber não ser a sua superfície tão homogênea como a das pertencentes à raça bovina.

A maioria era constituida, assim, quer de colônias pequenas, (Foto 3, à direita), medindo, quando em pleno desenvolvimento, 0,1 a 0,5 mm de diâmetro, arredondadas ou de contorno irregular, ligeiramente elevadas sôbre o meio, de aspecto pouco rugoso, quer de colônias de diâmetro total bem maior mas igualmente pouco elevadas: apenas, sobresaindo, um "núcleo" central, e, em torno, constituindo a maior parte da colônia, fina película que, ora se destaca ainda do meio (Foto 6), ora neste se perde gradualmente, dêle afinal se distinguindo, a olho nú, graças apenas ao corante (verde malaquita). Quando muito numerosas, tais colônias formavam pela fusão das respectivas películas marginais, camada continua onde era ainda possivel distinguir saliências correspondentes aos "núcleos" das colônias isoladas.

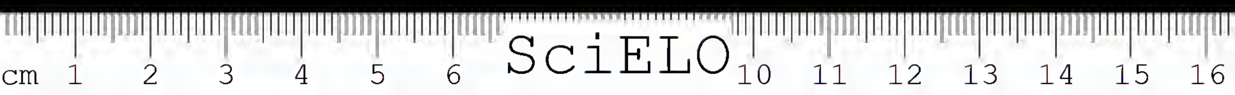
Essa variedade de aspecto das colônias poude ser melhor observada em culturas escolhidas, obtidas, de preferência, por meio de repique, após diluição em série, de suspensão de cultura em camada ou de colônias isoladas.

Foram assim selecionadas verdadeiras escalas de transição de colônia rugosa para lisa (Fotos 8 e 9).

Outras vezes, só com auxílio de uma lupa (aumento x5, x10) era possivel perceber gradação na rugosidade das colônias entre os dois extremos (Fotos 10 e 11).

Nos inúmeros repiques praticados com essas raças disgônicas em Petragnani glicerinado, a partir de meios quer com, quer sem glicerina, na maioria das vezes o crescimento obtido foi em camada em geral espessa, algumas vezes perfeitamente lisa, outras vezes menos homogênea, mostrando ainda, na superfície, mesmo após incubação prolongada, irregularidades e saliências, residuos das colônias inicialmente isoladas.

Em alguns dos seis casos, as diferentes amostras obtidas de cada paciente, mostravam, em cultura inicial, ora exclusivamente poucas colônias isoladas bem rugosas, ora numerosas colônias que se apresentavam, quando observadas a olho nú, a maioria, com aspecto disgônico, e, uma ou outra, com aspecto eugônico, de diâmetro até cinco, seis vezes maior do que o das disgônicas, todas elas, quando examinadas com lupa, revelando-se como graus diversos de transição de



colônia disgônica pequena, mas pouco rugosa, para colônia eugônica, grande, bem rugosa.

Só uma vez obtivemos crescimento em batata glicerinada, em repique de meio sem glicerina, de amostra ainda não cultivada em meio glicerinado, correspondente a um dêsses seis casos; apenas uma colônia na superfície da batata e véu pouco extenso mas espesso sôbre o caldo. As culturas obtidas, a partir dessa batata, apresentaram-se abundantes, rugosas, indistinguiveis das do tipo humano eugônico.

Para cada uma das raças disgônicas, a prova de cultura em batata foi repetida numerosas vezes, dada a sua importância (9) para a diferenciação dos tipos. Mesmo após hábito prolongado em meio glicerinado, o repique em batata foi, de regra, negativo, com as amostras correspondentes a tres dos seis casos estudados; apenas uma vez, para cada um dêsses tres casos, entre as inúmeras tentativas feitas, conseguimos obter cultura em batata: num dêles, crescimento augônico, após ano e meio de passagem em Petragnani glicerinado e, nos dois outros, crescimento disgônico, após duas passagens.

Com amostra correspondente a outro dos seis pacientes acima, conseguimos em batata por semeadura da cultura inicial em Petragnani glicerinado, crescimento eugônico, mantido a seguir com o mesmo aspecto em repiques em série, quer em batata, quer em Petragnani; com outra amostra pertencente ao mesmo caso, obtivemos crescimento disgônico em batata, transplante igualmente de cultura inicial em Petragnani glicerinado. No entanto, a repetição, em escala maior, da prova, com várias culturas iniciais em Petragnani glicerinado, correspondentes ao mesmo caso, deu sempre resultado negativo.

As culturas iniciais em Petragnani glicerinado, obtidas em duas ocasiões diversas de material pertencente ao quinto paciente, repicadas para vários tubos de batata, deram origem a crescimento disgônico: duas ou tres colônias, que, transplantadas, forneceram culturas de aspecto eugônico mantido a seguir em sub-culturas em série.

Finalmente, com amostra pertencente ao último caso, obtivemos em Bordet-Gengou glicerinado, a partir de cultura inicial em Petragnani com glicerina, crescimento liso em camada espessa que, semeado em Petragnari e batata, forneceu crescimento rugoso eugônico típico, mantido igualmente em sub-cultura.

Com outra amostra pertencente a êste último caso, observámos, em meio de Löwenstein com glicerina, — repique de cultura inicial, em camada espessa mas lisa em Petragnani glicerinado — transformação, após incubação prolongada, do aspecto do crescimento. Durante tres meses, cultura disgônica, formando camada sôbre a qual sobresaíam ligeiramente algumas pequenas colônias, às vezes simples pontos, desenvolveu-se repentinamente em cultura de aspecto eugônico, com numerosas colônias acentuadamente rugosas que sobresaíam nitida-

mente sôbre o nivel do meio de cultura, enfim em cultura de tipo humano eugônico.

A cultura em Löwenstein, quando ainda apresentando aspecto disgônico, foi inoculada em cobaia; readquirida desta, a raça mostrou ainda, em Petragnani com glicerina, crescimento disgônico (Foto 7) mas perfeitamente diferenciavel, de uma cultura do tipo bovino.

Em resumo, já pelas provas culturais — aspecto geral do crescimento, influência da glicerina e, principalmente, prova em batata glicerinada e estudo detalhado de colônias que se apresentavam isoladamente ou eram assim obtidas mediante técnica apropriada — foi possivel, para as raças classificadas como disgônicas humanas, fazer o diagnóstico diferencial com o tipo bovino. Do tipo humano eugônico, puderam as raças em estudo ser distinguidas, graças à ausência de crescimento, em geral (sw uma vez crescimento eugônico), em batata, quando ainda não habituadas à glicerina e pelo desenvolvimento, quando considerado em conjunto, muito mais disgônico e menos rugoso em Petragnani glicerinado que o das raças humanas eugônicas.

Até o momento não conseguimos obter com essas raças dissociação, em cultura pura, em colônias rugosas e lisas; prosseguimos atualmente estudo a respeito que pretendemos, para o futuro, detalhar juntamente com o resultado de experiências em animais, sôbre a virulência das culturas de aspecto vário, obtidas a partir das raças inicialmente classificadas como humanas disgônicas.

A respeito das inoculações já feitas, relataremos apenas o que interessa diretamente ao diagnóstico diferencial entre raça humana e bovina.

Foram inoculados ao todo 38 coelhos, sendo 26 na veia e 12 sub-cutaneamente. Dos primeiros, 16 receberam 0,01 mg, dois 0,1 e oito 1 mg de bacilos; dos últimos, cinco receberam 10 mg, tres foram injetados com o crescimento total de cultura — de 24 dias em dois casos e de tres meses no terceiro — e quatro com escarro tratado pela NaOH e neutralizado pelo H^2SO^4. O exame bacterioscópico prévio revelou a presença de bacilos alcool-ácido resistentes no escarro nos quatro casos.

A autópsia foi geralmente realizada aos tres meses após a inoculação, sendo uma pequena maioria sacrificada com dois, quatro ou cinco meses.

Apenas alguns dos coelhos que receberam um mg de bacilos isolados de dois dos seis casos em estudo, apresentaram lesões generalizadas de tuberculose. Outros coelhos inoculados com igual dose de raças pertencentes a êsses mesmos dois casos, ou aos restantes, apresentaram apenas alguns tuberculosos isolados nos pulmões. Todos os coelhos inoculados na veia com as doses menores ou nada apresentavam à autópsia ou apenas lesões isoladas e não caseificadas.



Os coelhos inoculados sub-cutaneamente, à exceção de dois que revelaram à autopsia lesões orgânicas pouco extensas, quer nada apresentavam quer apenas abcesso local no ponto de inoculação, na maioria das vezes já fibrosado ou contendo apenas pequena quantidade de pús espesso, cremoso, no qual o exame bacterioscópico revelava raros bacilos ou, mesmo apenas restos de substância alcool-ácido-resistente.

Todas as raças inoculadas mostraram-se virulentas para a cobaia.

COMENTÁRIO

Os nossos resultados veem aumentar o número de investigações que, em vários paises do mundo, têm constatado a ausência do bacilo bovino em escarro de doentes de tuberculose pulmonar, em número variavel de casos.

Como vimos, na primeira parte dêste trabalho, em tres dêles (Estados Unidos, Irlanda e França) a pesquisa do bacilo bovino já atingiu um número razoavel de casos. Aliás no primeiro, a possibilidade de infeção humana pelo bacilo de origem bovina é hoje mínima, graças aos resultados extraordinários obtidos na luta contra a tuberculose do gado.

No que diz respeito ao nosso pais, é preciso que se multipliquem as investigações, para que se possa concluir, de resultado análago a odêste trabalho, não exercer o bacilo bovino grande papel entre nós na etiologia da tuberculose pulmonar. É sabido, pelo exemplo da Escócia e Inglaterra, como pode variar, em regiões vizinhas, a incidência da tuberculose pulmonar de origem bovina, segundo os hábitos peculiares ás respectivas populações.

Em S. Paulo, A Melo e N. Mastrofrancisco (10) encontraram, entre cem amostras de leite cru entregue ao consumo da população da capital do Estado, trinta contaminadas pelo bacilo de Koch vivo. Tal achado, aliado à constatação do alto índice (40%) de sensibilidade à tuberculina que, segundo êstes técnicos, apresenta o gado leiteiro dos estábulos situados no município de S. Paulo, dava já uma idéia do perigo de contaminação do homem entre nós pelo germe de origem bovina. A investigação de Rangel Pestana (11) vem provar que tal infeção realmente se verifica: entre 121 raças de *Mycobacterium tuberculosis* isoladas de amostras de líquido céfalo-raquidiano, examinadas no Instituto Bacteriológico de S. Paulo, hoje Instituto Adolfo Lutz, foram encontradas 16 (13,2%) pertencentes ao tipo bovino.

Sabe-se, no entanto, que a parcela de responsabilidade do bacilo bovino como fator etiológico da tuberculose humana é muito menor na tísica pulmonar que nas formas extra-pulmonares da infeção.

De qualquer forma, seria de todo injustificavel pretender abolir entre nós a prática da pasteurização do leite. Talvez sejam os Estados Unidos o único



país do mundo em condições de, com perfeita segurança, poder no momento tomar tal medida, pois só lá foi, por enquanto, a tuberculose bovina praticamente extinta.

Como auxílio ao esclarecimento do problema da pasteurização, ainda recentemente debatido entre nós, traduzimos aqui as palavras de Bruno Lange (3), com as quais o eminente diretor do Instituto Roberto Koch, de Berlim, conclue os seus comentários, referentes à questão da importância etiológica do bacilo bovino na patologia humana:

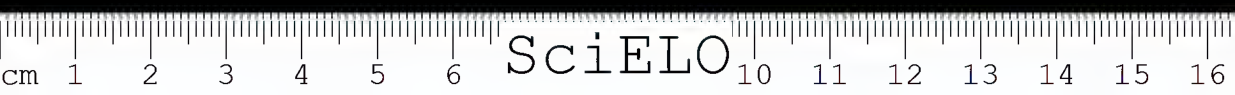
"Ao esclarecer o povo sobre os perigos de uma infeção com o bacilo da tuberculose bovina e a sua prevenção, deve ser combatido o preconceito largamente disseminado segundo o qual *o leite pasteurizado ou rapidamente fervido é prejudicial ao lactente.* Já ha muito, numerosos lactentes são criados, nas grandes cidades alemãs assim como no estrangeiro, apenas com leite pasteurizado *sem que, tenham sido observadas perturbações de saude ligadas a tal procedimento.* A perda de vitamina C que, segundo Bessau, é capaz de prejudicar a vitalidade da criança e principalmente elevar a sua predisposição à infeção, pode ser perfeitamente compensada, fornecendo-se-lhe outros alimentos ricos em vitamina".

Quanto às raças humanas disgônicas, a frequência em nossos casos (4,5%) não difere muito da citada por Griffith (8): "aproximadamente 3% do número total de raças do tipo humano". Devido à sua semelhança com as raças humanas eugônicas, no que diz respeito à virulência e a alguns caracteres culturais, e à sua frequência baixa quando comparada com a destas, foram as raças humanas disgônicas consideradas pela "Royal Comission" como variantes das primeiras.

Mas mais tarde, Griffith (12), entre 50 raças de bacilo de Koch isoladas na Nigéria, encontrou nada menos que 28 pertencentes ao grupo disgônico humano, o que indica poder diferir, nas diversas partes do mundo, o conceito do que seja raça tipo e raça variante, desde que se tome a frequência relativa como critério determinante.

Tais raças provenientes da Nigéria apresentam, pela descrição feita (13), maior semelhança com as por nós isoladas, que as estudadas pela "Royal Commission", pois são as primeiras "disgônicas em todos os meios" enquanto que as últimas "em meios com soro ou ovo crescem como bacilos eugônicos humanos" e não se assemelham a raça bovinas em "nada exceto em crescer com dificuldade em agar, batata e caldo glicerinado" (14).

Aliás entre as diversas raças disgônicas por nós isoladas foi possivel estabelecer diferença quanto ao vigor do crescimento. Assim, parece que, como queria Eastwood (15), entre as raças bovinas disgônicas e as humanas eugônicas todas as formas de transição são encontradas. Tal escala de transição parece



existir não apenas quanto ao vigor do crescimento tomado no seu conjunto mas tambem quando se consideram as colônias isoladamente.

Com efeito, de um lado, as raças disgônicas por nós isoladas mostraram nas primeiras sub-culturas e, algumas vezes, em cultura inicial, mistura, em diversas proporções, de colônias as mais diversas quanto ao seu aspecto mais ou menos rugoso; de outro lado, as raças bovinas e humanas típicas apresentam nas primeiras culturas, aquelas, colônias perfeitamente lisas e disgônicas e, estas, colônias bem rugosas e eugônicas, formas essas sempre presentes em cultura em enorme predominância ou exclusividade (pois parece não haver na literatura referência a achado de colônia lisa e disgônica em meio a uma cultura eugônica humana).

Tais raças disgônicas, consideradas habitualmente atípicas e recentemente achadas, como vimos, em alta porcentagem (56%) entre amostras da Nigéria, despertam agora novo interesse após a observação de Griffith (12) relativa à sua mais alta frequência na tuberculose pulmonar humana, nos distritos rurais de certa região da Escócia, que em outras partes da Grã-Bretanha, de maneira análoga ao que se passa com a raça bovina. A possibilidade que elas desempenhem papel a parte na epidemiologia da tuberculose humana merece ser investigada. Os casos por nós estudados, em número por demais reduzido, não proporcionaram, a respeito dessa questão, nenhum dado utilizavel.

RESUMO

1.º — Foi determinado o tipo de culturas de bacilo de Koch isoladas, em alguns casos repetidamente, de 132 doentes de tuberculose pulmonar em tratamento no Hospital S. Luiz de Gonzaga, Jaçanã, S. Paulo.

2.º — Não foi encontrada nenhuma raça bovina.

3.º — As raças isoladas repetidamente de 6 pacientes foram classificadas como humanas disgônicas.

4.º — As raças isoladas dos doentes restantes (126) pertenciam ao tipo humano eugônico.

5.º — Foram descritos os caracteres gerais das raças humanas disgônicas isoladas, tendo sido dada especial atenção ao estudo morfológico de colônias isoladas.



TYPES OF TUBERCLE BACILLI ISOLATED FROM SPUTUM

BY

PLÍNIO MARTINS RODRIGUES

In the Brazilian medical literature there is as far as we know only one paper wherein reference is made to the isolation of the bovine type of tubercle bacillus from the sputum of patients suffering from pulmonary tuberculosis. Rosemberg (16) referred therein having isolated bovine bacilli from sputum of three such patients but no mention is made of the total number of cases for which the same material was examined.

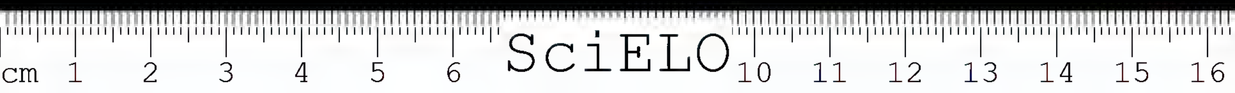
The results for typing tubercle bacillus strains isolated from 132 patients suffering from pulmonary tuberculosis are reported in this paper. All of them were grown-up people under treatment in "Hospital S. Luiz de Gonzaga", Jaçanã, S. Paulo.

MATERIAL AND METHOD

Three tubes of malachit-green Petragnani (6) medium containing glycerin and three others free from it were used throughout the work for the primary culture. Dorset and Lubenau media were also made use of when the first samples of sputum were examined, but were later given up because of extensive contamination in spite of previous treatment of the sputum with 4% KOH according to Griffith's simplified technique (1) employed by us in every case.

Subcultures were made for every strain from Petragnani with glycerin and sometimes additionally from Petragnani without glycerin to both kinds of media and now and then also to Bordet-Gengou, Loewenstein, Sauton, glycerin boillon, etc.

The human eugonic strains have always been easily typed on cultural grounds only. Occasionally negative subculturings were repeated and so every doubt was set aside.



All strains that grew dysgonically were submitted to subculturing carried out as usual and with a special technique (7) for growing separated colonies. Everyone of them was inoculated into rabbits on the dose of 10 mg subcutaneously and 0.01 and occasionally O.1 and even 1 mg intravenously.

Guinea-pigs were inoculated subcutaneously with sputum not only after being treated first with NaOH and then neutralized with H_2SO_4, but also with cultures in order to ascertain the virulence of the strain and the constancy of its characteristics after animal passage.

RESULTS

A culture was obtained from the sputum of every patient. In twenty of the 132 cases a tubercle bacillus strain was isolated more than once from the same person, and the result of typing was always the same for every repetition.

Alcohol-acid-fast bacilli were found on smears of all samples of sputum submitted to culturing.

The strains from 126 of these patients were classified as human eugonic; no bovine strain was met with. Strains obtained repeatedly from everyone of the six remaining people belonged to the human dysgonic type; a primary culture was obtained twice from three of them, thrice from two others and four times from the last.

The longest interval between two examinations of sputum from the same person was a year and a half for one of these six cases, and 9½, 3½, 2, 2 months and some days for the remainder.

Two of these six patients were father and son. This fact seems to confirm the observation once more made in the cases herein reported concerning the type stability of the tubercle bacilli as determined on different occasions when growing in the animal or human body. Indeed it seems probable through the inquiry made that the father was the source of contamination for the son. Both cases have shown a favourable clinical course.

The amount of growth of human dysgonic strains on glycerin Petragnani medium was as a rule much greater than on the same medium without glycerin. When a layer was formed it was on secondary or even on primary culture three or four times as thick on the former kind of medium as on the latter.

The growth of such strains was on primary cultures however never so luxurious as is usual with typical human eugonic bacilli (Photo 1). Even on subcultures it was as a rule easy to distinguish between both types of growth (Photo 2). The layer sometimes formed by the dysgonic strains (Photo, 3 to

the left) was very similar to the one presented usually by secondary cultures of bovine bacilli on Petragnani as far as the evenness of the growth is concerned but was much thicker.

The study of the cultural characteristics was already sufficient to discard for such dysgonic strains the possible alternative diagnosis of bovine strains which are not inhibited in their growth by glycerin (8). In fact, the colonies appearing separately on primary cultures or so obtained on subcultures by means of a special technique were in great majority quite different from the perfectly smooth, shining, dome-shaped ones, typical of bovine strains.

All transitional grades were observed in the same strain or in different strains obtained from the same patient: at one end some colonies identical to those belonging to the typical human eugonic strains, very rough and well developed, in the middle in greater number, dysgonic and less rough ones (Photo 4), at the other end smooth bovine-like form of colony, rarely met with (Photo 5).

If single colonies of the latter form were observed by the naked eye, they would perhaps be typed as bovine ones. But when they were considered together with all the others in the same tube, one could easily perceive that they were but almost an extreme step in the graduation "smooth-rough". It was always possible to see with the aid of a hand-lens that their surface was not so even as that of the typical bovine colonies.

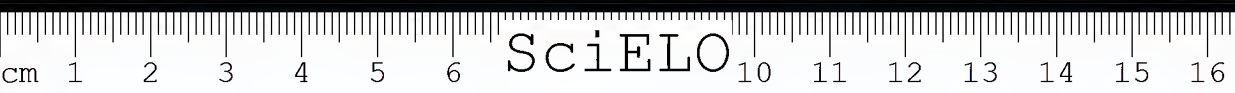
The majority of the colonies belonged then to either of the following types. Some were circular or irregularly outlined, flat, small colonies with diameters ranging from 0.1 to 0.5 mm (Photo 3, to the right). Others had a much greater diameter and presented a central, somewhat raised zone, a "nucleus" and a marginal one, flat, much larger than the first, now veil-like merging itself gradually into the medium, now still quite distinct from this (Photo 6).

It was sometimes possible to observe gradual transition from the colonies of the latter description to typical rough colonies as the margin grew smaller and smaller and the "nucleus" raised higher and higher.

On the other hand when a great number of such colonies had a small "nucleus" and wide borders, these could run together so as to form a continuous layer whereon one could still see raised points which indicated the central areas of the previous single colonies.

This variety of colony-forms could be better observed on selected subcultures obtained by inoculating dilutions of suspensions prepared with layers of growth or with single colonies. It has thus been possible to select true scales from smooth to rough colonies (Photos 8 and 9).

On other occasions only with a hand-lens (magnific. x5, x10) it was possible to perceive a graduation in the roughness of the colonies between the two extremes (Photos 10 and 11).



The growth displayed by these dysgonic strains on glycerin Petragnani in a great number of transplantations from media either with or without glycerin was commonly a layer that was seldom perfectly smooth, appeared generally not so even and presented still on its surface the remnants of the previous single colonies, even after prolonged incubation. Some primary cultures isolated from the six patients referred to above showed exclusively a few isolated rough colonies, whereas another or other primary cultures from the same person displayed numerous colonies of which the great majority were dysgonic, but a few looked eugonic and were five, six times as great. Here again it was possible to perceive a gradual transition from small, slightly rough dysgonic colonies to large rough eugonic ones.

Only once a strain typed as dysgonic human and not yet accustomed to glycerin, grew on glycerin potato, giving one colony on the surface of the potato and a thick but small veil on the bouillon. Rough, luxuriously growing cultures quite undistinguishable from those of the human eugonic type were obtained by transplanting from the glycerin-potato-tube.

This growth-test on glycerin potato was repeated very often due to its importance (9) for type determination. No growth appeared as a rule for the strains isolated from three of the six patients already referred to, even after prolonged training on glycerin media. Only once for each of these three strains, the transplantation gave a growth after being repeated a great many times: for one of them eugonic growth after a year and a half subculturing on glycerin Petragnani and, for the two others, eugonic growth after two transplantations.

By subculturing from glycerin Petragnani a strain isolated from another of the six cases herein studied, an eugonic growth was obtained on glycerin potato and then maintained with the same appearance through a series of transplantations, either on potato or on Petragnani. Another strain from the same patient grew likewise dysgonically on glycerin potato on being transplanted from a primary culture on glycerin Petragnani. The repetition of the test by employing several primary cultures on glycerin Petragnani from the same cases was however always negative.

A dysgonic growth appeared on several glycerin potato tubes sown with material from glycerin Petragnani primary cultures isolated on two different occasions from the fifth case. There developed only two or three colonies that on being transplanted gave eugonic growth carried with the same aspect through a series of subcultures.

A strain isolated on glycerin Petragnani from the last case was transplanted to glycerin Bordet-Gengou and grew here into a smooth, thick layer, that on being subcultured to glycerin potato and Petragnani, gave a typical rough eugonic growth maintained then through a series of transplantations.

Another strain isolated on glycerin Petragnani grew into a thick but smooth layer and was then transplanted to glycerin Loewenstein. Here it had during three months a dysgonic appearance, forming a layer above which some small colonies rose that were sometimes mere points and it then changed its type of growth. It developed itself suddenly into a luxuriously growing culture, displaying numerous very rough colonies which rose high above the level of the medium, that is to say into an eugonic human type of culture.

The Loewenstein culture was inoculated into a guinea-pig when it still grew dysgonically: it was later recovered and went on growing dysgonically on glycerin Petragnani (Photo 7), but in such a way as to be possible to distinguish between it and a bovine culture.

The results of the animal-inoculation tests with the dysgonic strains confirmed the typing based on the study of the cultural characteristics. Twenty-six rabbits were inoculated intravenously and twelve intracutaneously. From the former sixteen were injected with 0.01 mg. two with 0.1 and eight with 1 mg of bacilli: from the latter five received 10 mg, three were inoculated with the entire growth of a culture, twenty-four days old in two cases and three months in the third, and four with sputum previously treated first with NaOH and then neutralized with H_2SO_4. Alcohol-acid fast bacilli were found on slide preparations in all these four specimens of sputum.

Autopsy was generally carried out three months after the inoculation: a small number of animals were killed after two, four or five months.

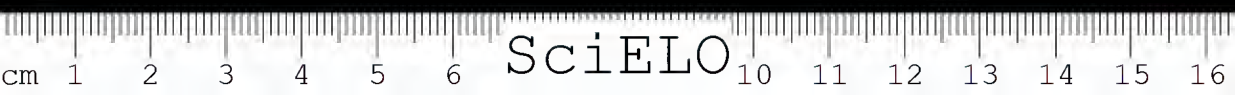
Generalized tuberculous lesions were found only in some of the rabbits inoculated with 1 mg of bacilli isolated from two of the six cases under study. Other rabbits which were injected with strains isolated either from the same two cases or from the remainder, and in the same dose, had only isolated tubercles in the lungs. All the animals that were inoculated intravenously with the smaller doses had at autopsy either nothing or only isolated and non-caseating lesions.

The rabbits which were injected subcutaneously had at autopsy either nothing or only a localized abcess at the point of inoculation, already healed through fibrosis or then containing some thick creamy pus that on slide preparations showed only rare stabs or even only remnants of an alcohol-acid material.

COMMENT

This paper adds to the number of those which have reported the absence of bovine strains amongst tubercle bacillus cultures isolated from patients suffering from pulmonary phthisis.

As far as the human dysgonic strains are concerned the frequency in the cases herein reported does not differ very much from that quoted by Griffith



(8): "about 3 per cent of the total strains of human type". But later on Griffith (12) found no less than 28 human dysgonic strains among a group of 50 isolated in Nigeria. These findings indicate that the concept of typical and atypical strains when based only on their relative frequency may vary in different countries.

Such Nigerian strains are according to description (13) much more like those studied by us than those detailed by the "Royal Commission" appointed in England to inquire into the relations of human and animal tuberculosis. Whereas the latter "resemble bovine strains in nothing except in growing with difficulty on glycerin-agar, potato and broth" and "on serum and egg media they grow like eugonic human bacilli" (14) the former were dysgonic on all media.

Besides it was possible to distinguish between the different dysgonic strains isolated by us as far as the vigor of their growth is concerned. Thus it appears as Eastwood maintained (15) that all transitional forms are found between the bovine dysgonic and the human eugonic strains. Such scale seems to exist not only when one considers the growth as a whole but also when isolated colonies are observed.

In fact, on the one hand the dysgonic strains herein described displayed on the first transplantations and sometimes on the initial culture the most different colonies as far as the vigor of their growth and their more or less rough appearance are concerned. On the other hand the typical bovine and human strains present on the first cultures, the former perfectly smooth and dysgonic and the latter markedly rough and eugonic colonies, all forms that prevail in each case in a striking way or exist alone (for it seems that no reference is found in the literature regarding any smooth and dysgonic colony in the midst of a human eugonic culture).

The dysgonic human type that recently as we saw was isolated in a high percentage (56%) in Nigeria gained a new interest through Giffith's remark that it is more frequently found in cases of pulmonary tuberculosis in the rural districts of a certain region in Scotland than in other parts of Great Britain in a similar way to what is observed with the bovine type.

Whether or not these dysgonic strains have a peculiar rôle in the epidemiology of tuberculosis is a feature that deserves further inquiry. The number of the cases we have studied is as yet far too small to allow of any serviceable observation concerning this question.

SUMMARY

1. The type of tubercle bacillus isolated, in some cases repeatedly, from 132 patients suffering from pulmonary tuberculosis under treatment in the "Hospital S. Luiz Gonzaga", São Paulo, was determined.

2. No bovine strain was found.

3. The strains isolated repeatedly from 6 patients were classified as human dysgonic.

4. The strains isolated from the remaining patients (126) were typed as human eugonic.

5. The general characteristics of the isolated human dysgonic strains have been described, and special attention was dedicated to the morphological study of isolated colonies.

BIBLIOGRAFIA

REFERENCES

1. *Griffith, A. S.* — Jour. Hyg. (Camb.) **40**: 365.1940.
2. *Griffith, A. S.* — A System of Bacteriology (Londres) **5**:193.1930.
3. *Lange, B.* — Dtsch. med. Wschr. **63**: 1.506.1937.
4. *Griffith, A. S. & Smith, J.* — Lancet **1**: 739.1938.
5. *Beattie, M. & Nicewonger, R.* — Am. Rev. Tuberc. **45**: 586.1942.
6. *Calmette, A.* — L'infection bacillaire et la tuberculose. 3.ª edição, Paris. 1928:53.
7. *Moeller, J. F.* — Acta tuberc. Scandinav. Suplem. 11.1939.
8. *Griffith. A. S.* — A System of Bacteriology (Londres) **5**:164.1930.
9. *Griffith, A. X.* — Ibid. **5**:290.1930.
10. *Mello, A. & Mastrofrancisco, N.* — Rev. Indust. Anim. **1**(4): 25.1938.
11. *Pestana, B. R.* — Rev. Instituto Adolfo Lutz **1**(1): 40.1941.
12. *Griffith, A. S.* — Jour. Hyg. (Camb.) **41**: 272.1941.
13. *Griffith, A. S.* — Ibid. **41**: 250.1941.
14. *Griffith, A. S.* — A System of Bacteriology (Londres) **5**:198.1930.
15. *Arena, A. R. & Cetrángolo, A.* — Anal. Cated. Patol. Clin. Tuberc. **3**: 327.1941.
16. *Rosemberg, J.* — 2.º Congr. Nac. Tuberc. Sec. S. Paulo **2**:467.1941.

(Trabalho do Laboratório de Contrôle e Tuberculose do Instituto Butantan. Entregue para publicação em novembro de 1942 e dado à publicidade em fevereiro de 1943).

FOTOGRAFIAS

Esclarecimentos.

FOTO 1 — Culturas iniciais de mesma idade em Petragnani glicerinado.
A esquerda: raça humana eugônica.
A direita: raça C humana disgônica, mostrando crescimento em camada.

FOTO 2 — *Em baixo*: raças 157, C. e 157 disgônicas humanas.
Em cima: crescimento eugônico e rugoso da raça 71 inicialmente classificada como disgônica humana.

FOTO 3 — *A esquerda*: raça F humana disgônica com numerosas colônias, fundidas em camada lisa, na maior parte do meio.
A direita: mesma raça mostrando colônias isoladas.

FOTO 4 — Raça humana disgônica F.
Mistura de colônias disgônicas e de colônias eugônicas e rugosas.

FOTO 5 — Raça humana disgônica 157.
Mistura de colônias eugônicas e disgônicas; no canto inferior esquerdo e no centro colônias semelhantes às do tipo bovino.

FOTO 6 — Repiques duma mesma cultura humana disgônica (raça F).
A direita: semeadura com suspensão diluida de colônias em soro fisiológico, vendo-se colônias isoladas com "núcleo" central e película marginal.
A esquerda: semeadura com alça "carregada", vendo-se crescimento em camada.

FOTO 7 — Raça 71 classificada inicialmente como humana disgônica. Culturas provenientes dum mesmo crescimento em meio de Loewenstein.
A esquerda: cultura descendente de repique obtido do crescimento em Loewenstein quando este ainda apresentava aspecto disgônico. Crescimento disgônico pontilhado de numerosas colônias, confluidas em algumas partes do meio.
A direita: cultura isolada de cobaia inoculada com o crescimento em Loewenstein após sua transformação em cultura eugônica. Crescimento eugônico e rugoso.

FOTOS 8 E 9 — Raças 157 e 71 humanas disgônicas.
Transição "liso-rugoso "de colônia a colônia duma mesma cultura.

FOTOS 10 E 11 — Raças 57 e 157 humanas disgônicas.
Transição de colônia lisa para rugosa.

Explanations of the photographs

PHOTO 1 — Primary cultures of the same age on glycerin Petragnani.
To the left: human eugonic strain.
To the right: human dysgonic strain C, showing a layer of growth.

PHOTO 2 — *Below*: human dysgonic strains 157, C and 157.
Above: eugonic and rough growth of the strain 71 at first classified as human dysgonic.

PHOTO 3 — *To the left*: human dysgonic strain F showing numerous colonies that ran together in the greatest part of the medium.
To the right: the same strain showing isolated colonies.

PHOTO 4 — Human dysgonic strain F.
Mixture of dysgonic colonies and of eugonic and rough ones.

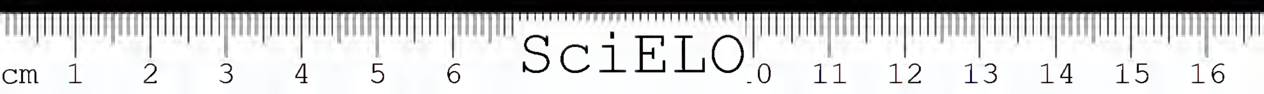
PHOTO 5 — Human dysgonic strain 157.
Mixture of eugonic and dysgonic colonies. On the lower left corner and in the middle some colonies resembling those of the bovine type.

PHOTO 6 — Transplants of the same human dysgonic culture (strain F).
To the right: seeding carried out with a diluted suspension of colonies in saline; one sees isolated colonies with central "nucleus" and marginal veil.
To the left: seeding carried out with a loopful of bacilli; one sees a layer of growth.

PHOTO 7 — Strain 71, at first classified as human dysgonic. Both cultures came from the same growth on Loewenstein medium.
To the left: transplant from a culture that came from the Loewenstein culture when this grew still dysgonically. Dysgonic growth dotted with numerous colonies that ran together in some parts of the medium.
To the right: culture recovered from a guinea-pig that was inoculated with the Loewenstein growth after this had changed into an eugonic culture. Eugonic and rough growth.

PHOTOS 8 AND 9 — Human dysgonic strains 157 and 71.
"Smooth-rough" transition from colony to colony of the same culture.

PHOTOS 10 AND 11 — Human dysgonic strains 57 and 157.
Transition from smooth to rough colony.


SciELO

Mem. Inst. Butantan
Vol. XVI — 1942

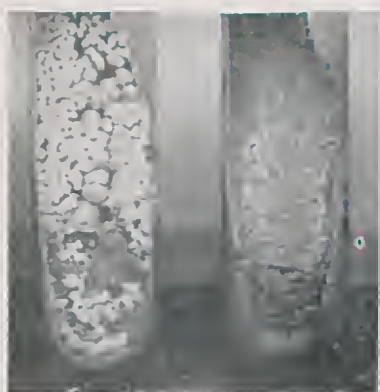


FOTO 1

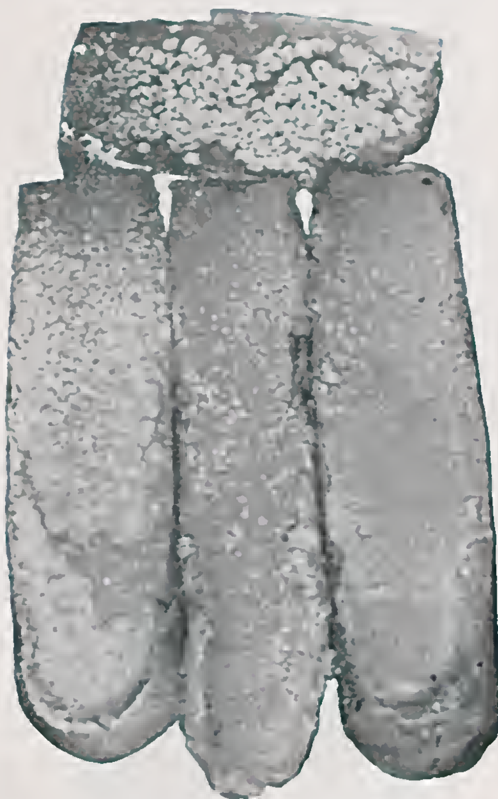


FOTO 2



FOTO 3

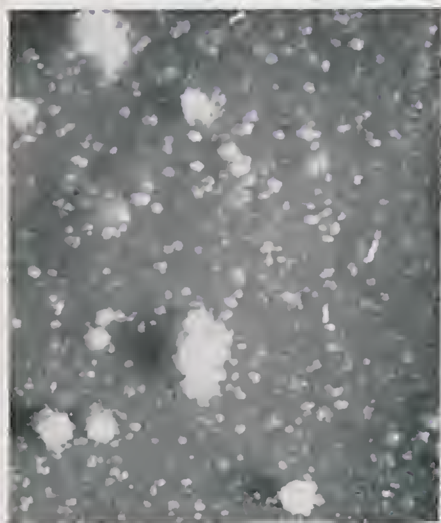


FOTO 4

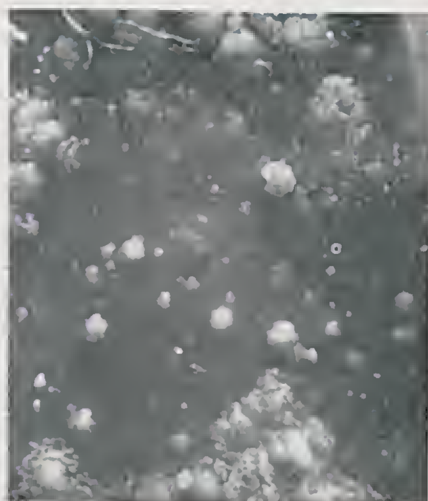


FOTO 5

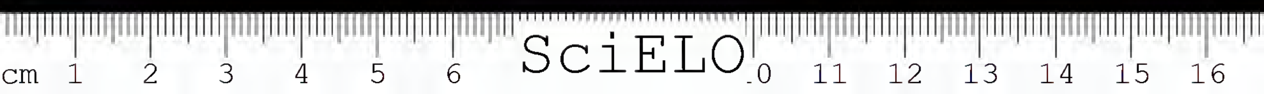
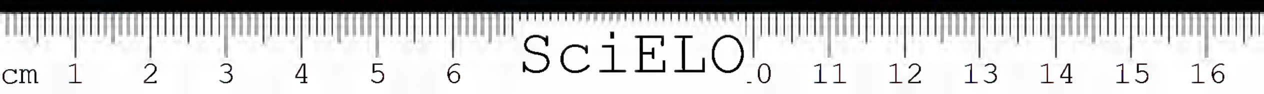

cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16



Foto 6



Foto 7


SciELO

Mem. Inst. Butantan
Vol. XVI — 1942



Foto 8

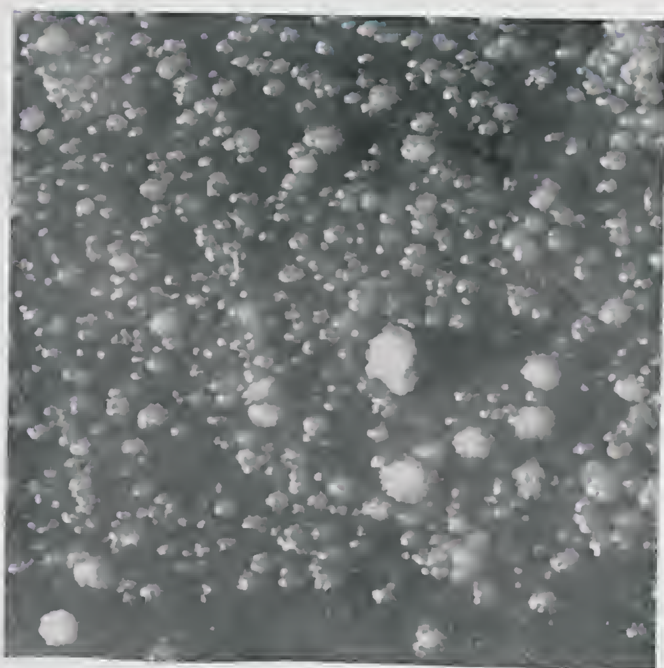
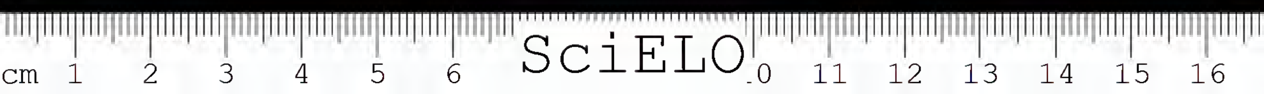


Foto 9


SciELO

Mem. Inst. Butantan
Vol. XVI — 1942

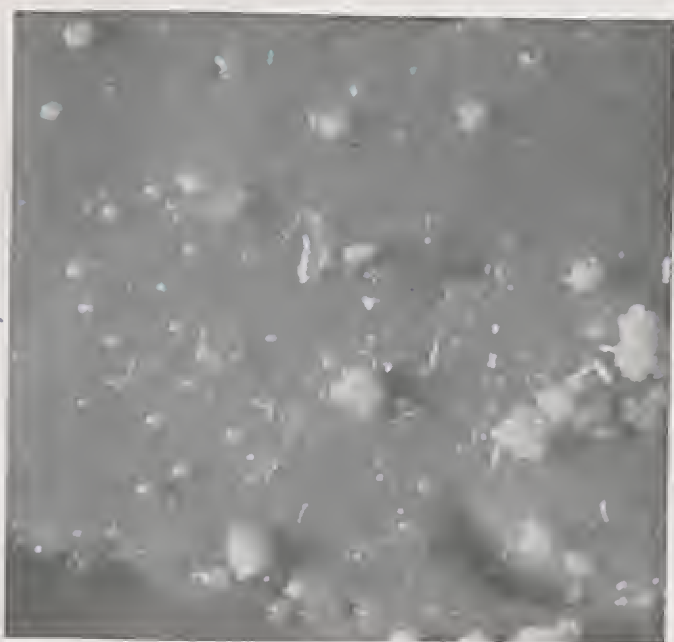
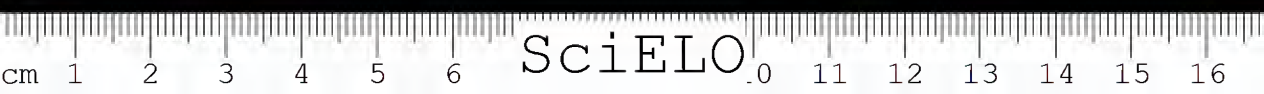


Foto 10



Foto 11


SciELO

581.634

CONTRIBUIÇÃO À MATÉRIA MÉDICA VEGETAL DO BRASIL

8. Complemento ao estudo farmacognóstico e terapêutico das várias espécies do gênero *Jacaranda* (*Bignoniaceae*)

POR

FERNANDO PAES DE BARROS

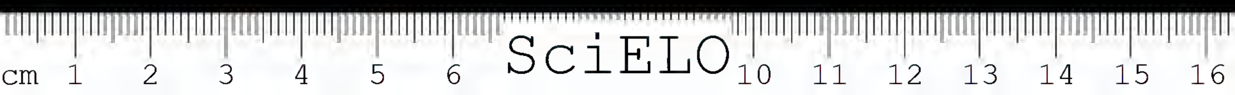
I

Entre as famílias botânicas mais ricas em espécies medicinais está, incontestavelmente, a das *Bignoniaceae,* na qual assume preponderância, pelo número e pelas múltiplas propriedades terapêuticas dos vegetais que nele se grupam, o gênero *Jacaranda,* cujo estudo foi iniciado pelo incansável pesquisador que era Theodoro Peckolt e continuado pelo seu neto, Waldemar Peckolt, no Instituto Butantan.

O conhecimento empírico das virtudes curativas das jacarandas vem de era remota. Na América do Sul, e principalmente no Brasil, os colonizadores europeus vieram encontrá-lo já divulgado entre as nações indígenas, mas foi muito mais tarde, em 1866, que êsse conhecimento se difundiu, cientificamente, pelos trabalhos do velho Peckolt, que foi quem iniciou no Brasil as análises químicas das plantas tidas como de utilidade médica.

Tão ricas de propriedades medicinais são as plantas que se classificam no gênero *Jacaranda,* que julgamos dever prosseguir no seu estudo, do ponto de vista terapêutico. O presente marca o início desse tentamem e tem como objetivo uma homenagem mais a Waldemar Peckolt.

Conhecendo, demonstrado pelo seu avô, o grande valor das jacarandas, êste nosso antecessor e organizador da Seção de Botânica Médica do Instituto Butantan, passou a se dedicar ao estudo das mesmas, e, especialmente, à espécie por êle tida como sendo a *Jacaranda decurrens* CHAM., porém, guiou as suas experiências para um lado ainda não explorado anteriormente, o das proprieda-



des parasiticidas da planta. Prosseguindo com êste objetivo, W. Peckolt o atingiu plenamente, colhendo os resultados positivos que publicou nas "Memórias do Instituto Butantan" com o Dr. Alcides Prado, do serviço de parasitologia, que se encarregou da parte referente a essa especialidade com toda a proficiência.

Entretanto, um engano, que de forma alguma poderá desmerecer o trabalho daquele cientista, foi por êle cometido, trazendo isso alguma confusão, por ser um equívoco de ordem sistemática, que precisa ser reparado.

Embora continuem desaparecidos os cadernos de notas deixados pelo saudoso pesquisador, por vários dados por nós encontrados, ao tomarmos conta da sua Seção, podemos dizer que a espécie que serviu para os estudos e experiências de W. Peckolt, nos seus trabalhos químicos e farmacêuticos, de que resultou a descoberta de um novo tratamento, seguro, fácil e econômico, das amibioses e de muitas outras protozooses intestinais, não foi a *Jacaranda decurrens* CHAM., conforme êle julgou, mas sim a *Jacaranda caroba* (VELL.) P. DC.

A simples observação das figuras esclarece a questão.

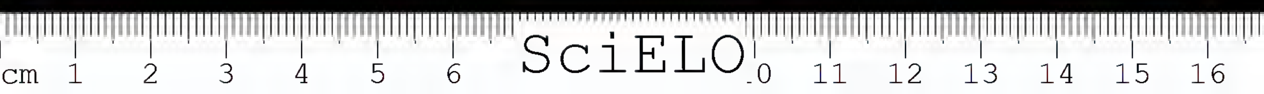
E' em homenagem à memória e ao saber daquele nosso ilustrado colega que fazemos esta correção, necessária para completar o seu valioso trabalho. Ninguem, por um simples equivoco na classificação de um vegetal, cousa bastante comum, mesmo entre os que se dedicam somente à botânica, poderá por em dúvida a capacidade científica de um pesquisador, cuja atividade se repartia entre a química, a farmacologia e a clinica médica.

Waldemar Peckolt era tudo isso e, por essa razão, a humanidade muito lhe deve; basta, si mais não houvesse feito, esta sua descoberta que tem restituido a saúde a centenas de doentes condenados a tratamentos penosos e grandemente dispendiosos. Foi um dos últimos trabalhos que realizou, quando o seu organismo, já depauperado, lutava contra o mal que, não muito longe, iria por termo a sua atividade terrena.

E' também ainda em homenagem àquele valoroso colega que aproveitamos a oportunidade de entrarmos na sua tão apreciada seara para fazer a retificação de um lapso verificado na publicação do mesmo trabalho de Peckolt, que escapou à revisão, do qual, temos quasi certeza, não cabe culpa ao autor.

Na sua publicação — *VI. Estudo pharmacognostico e therapeutico da Jacaranda decurrens Cham. (Bignoniaceae) MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN*, tomo IX, 1935, à página 307, primeira linha — está escrito: "A carobina é uma glicosida, que não nos foi possivel obter crystallizada, sinão amorpha."

Mais abaixo, na mesma página, encontra-se o seguinte: "Filtra-se e evapora-se o residuo até crystalisar, em temperatura que não exceda a mais de 80° C. Separam-se os crystaes do liquido...".



Indubitavelmente, o autor, pela sua integridade moral e científica, seria incapaz de escrever êste período e os que se lhe seguem, depois daquela afirmativa: *"não nos foi possível obter crystallizada, sinão amorpha."*

Waldemar Peckolt teria escrito, nos seus originais: "Filtra-se e evapora-se o residuo *até precipitar*, etc.". E, depois, abaixo: "O liquido separado do *precipitado* da primeira *precipitação* não dará mais *carobina amorpha* e forma, etc.".

Como dissemos, não nos move outro intuito que o de render mais uma homenagem a Waldemar Peckolt, ao corrigirmos êstes senões, que desfiguram o seu trabalho, escoimando-o, assim, de pontos de apoio para qualquer juizo menos justo quanto à competência indiscutível do seu autor.

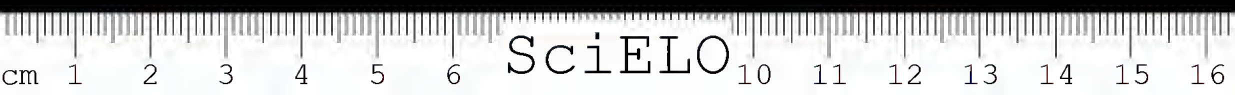
Assim deve ser encarado êste gesto, que nos parece ser um dever de coleguismo e lealdade e um preito de admiração.

A microfotografia que ilustra o presente, do serviço especializado do Instituto Butantan, foi executada com preparado confecionado pelo Dr. Domingos Yéred, a quem esteve entregue o serviço histológico da Seção, até os primeiros mêses do ano passado.

RESUMO

Com o presente, procura-se retificar dous enganos verificados nas partes botânica e farmacoquímica do trabalho: *VI — Estudo pharmacognostico e therapeutico da jacaranda decurrens Cham.* (*Bignoniaceae*), publicado nas MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN, tomo IX, 1935, página 299, por Waldemar Peckolt e Alcides Prado.

(Trabalho da Seção de Botânica Médica do Instituto Butantan. Entregue para publicação em 28-5-942 e dado à publicidade em fevereiro de 1943).



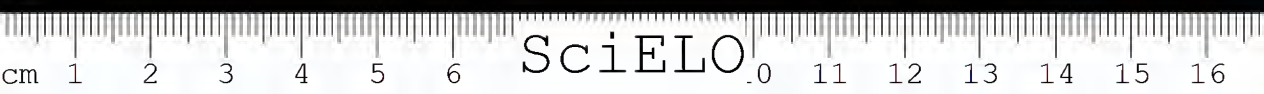

cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16



FIG. 1
Jacaranda decurrens
(W. PECKOLT)



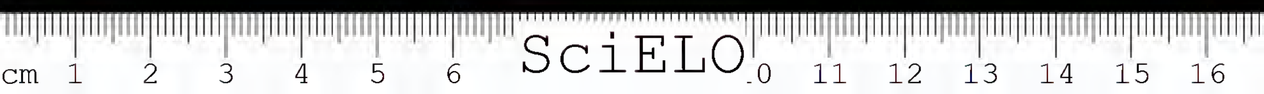
FIG. 2
Jacaranda decurrens
(W. PECKOLT)



FIG. 3
Jacaranda decurrens
(MARTIUS)



FIG. 4
Jacaranda caroba
(Foto de um preparado encontrado na Seção).


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16

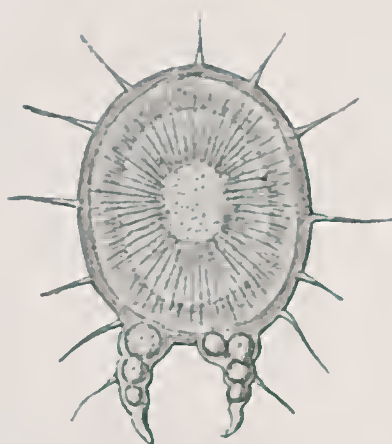


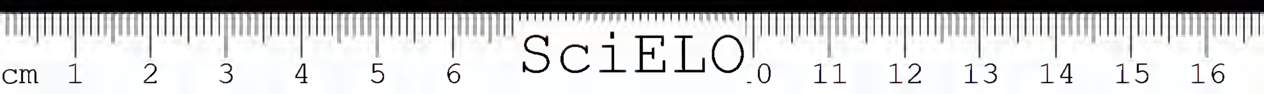
FIG. 5

Jacaranda decurrens
Corte de pecíolo
(MARTIUS)

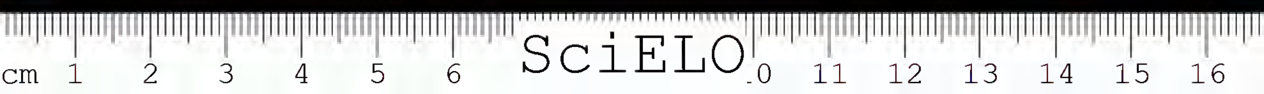


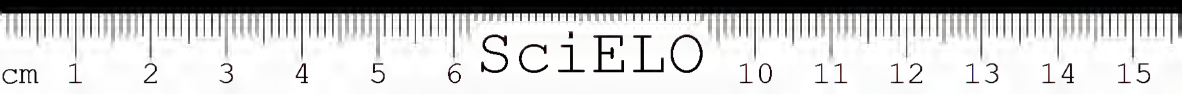
FIG. 6

Jacaranda car[illegible]a
Corte do pec[illegible]
(VERED)


SciELO


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15


SciELO


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15



Impresso na
E. G. "Revista dos Tribunais" Ltda.
São Paulo

